

## **Desarrollo de alimentos precocidos por extrusión a base de maíz-leguminosa**

### **1- INTRODUCCION**

#### **1.1. Revalorización de los cereales como alimento.**

En la última década notablemente la demanda de cereales precocidos se ha incrementado (Harper, 1992; Dos Santos Fernández, et al, 2002). Los cuales se consumen en forma de “snacks”, cereales para el desayuno, bases para sopas cremas, papillas, etc., siendo el maíz el cereal mas utilizado para este tipo de productos, sin embargo existe el interés de incorporar legumbres para mejorar las propiedades nutricionales (Bouzaza, 1996; González, et al, 2000).

Entre las razones que pueden mencionarse para explicar este aumento en el consumo se destacan la revalorización de los cereales como alimento y los cambios en el comportamiento del consumidor que lo induce a adquirir alimentos con mayor valor agregado. La comodidad de los productos preelaborados y el ahorro de tiempo conjuntamente con la novedad y la variedad en texturas, sabores, características nutricionales, tamaño y tipo de envase, etc., son utilidades que el consumidor moderno reconoce como necesarias y está dispuesto a pagar el mayor valor que estos productos tienen respecto a los alimentos tradicionales a base de cereales (González et al, 2002).

#### **1.2. Cereales precocidos.**

En el desarrollo de distintos productos alimenticios a base de cereales y oleaginosas, existe la tendencia de presentarlos en estado precocido, para su consumo directo ó de fácil preparación. Las ventajas de esta forma de comercialización son varias y se pueden mencionar las siguientes:

1. Gelatinización de la fracción almidonosa de la fórmula para dar máxima digestibilidad.

2. Inactivación térmica de inhibidores del crecimiento y factores que alteran la digestibilidad o el gusto.
3. Producto sanitariamente adecuado.
4. Alta estabilidad del almacenaje.
5. Posibilidad de dar formas y texturas diferentes.
6. Posibilidad de agregar diferentes sabores, colores, etc.

Los procesos más utilizados para desarrollar la mayoría de estos productos son nuevas técnicas de cocción para reemplazar o modificar la tradicional cocción hidrotérmica, entre estos podemos mencionar: laminación (flakes); explosión (puffing), en esta se utilizan granos enteros a los cuales se le reduce su densidad alrededor de diez veces (Fast, 1991) y la cocción por extrusión, donde se utilizan especialmente harinas, sémolas y almidones (Harper, 1981, Gómez et al, 1991, Batterman-Azcona y Hamaker, 1998; Fast, 1991, González, et al, 2002).

La tecnología de la extrusión se destaca en la industria de alimentos como un proceso eficiente, utilizándose en el procesamiento de cereales y proteínas, para alimentación humana y animal. Inicialmente esta tecnología se desarrolló para el transporte y formado de materiales, tales como masas y pastas. Actualmente se dispone de diseños muy sofisticados desarrollados en las últimas décadas. Una característica importante del proceso de extrusión es que es continuo, y que opera en un estado de equilibrio dinámico estacionario, donde las variables de entrada están equilibradas con la de salidas. La cocción por extrusión ha ganado popularidad debido a distintas razones entre las cuales se puede mencionar: (Kokini, 1992 a).

- ✓ Versatilidad: Se pueden elaborar una amplia gama de productos, mediante la combinación de distintos ingredientes y condiciones operativas, que difícilmente puedan generarse por otros procesos.

- ✓ Realiza simultáneamente operaciones de mezclado, cocción, texturización y secado parcial, requiere de poca mano de obra y espacio para su instalación.
- ✓ Eficiente utilización de la energía, ya que el sistema opera a una humedad relativamente baja, al mismo tiempo que el producto se cocina. La baja humedad reduce la cantidad de calor requerido para cocinar y para deshidratar el producto después de la cocción. El consumo de energía es del orden de 0,02 a 0,1 KW/h\*kg de producto.
- ✓ Desarrollo de múltiples características texturales.
- ✓ Alta calidad nutricional del producto: ya que es un proceso de alta temperatura y corto tiempo (HTST) que evita daños innecesarios en componentes sensibles como aminoácidos (AA) y permite la inactivación de ciertos factores antinutricionales y así aumenta la digestibilidad de proteínas.
- ✓ Ambientalmente favorable: el proceso se lleva a cabo a baja humedad, no generan efluentes que deban ser tratados.

### **1.3. El Proceso de Extrusión.**

La extrusión puede definirse como un proceso que involucra el transporte de un material, bajo ciertas condiciones controladas, forzándolo a pasar por una boquilla de una dada geometría y con un caudal masivo pre-establecido, durante este transporte se produce la cocción parcial o total de los componentes de la mezcla (González, et al 2002).

La cocción por extrusión es una forma especializada, y única en el procesado de materiales amiláceos debido a que se trata de una cocción a relativamente bajos niveles de humedad, comparado con el horneado convencional o la cocción de masas y pastas. Los niveles normales de humedad utilizados están en el intervalo de 10-40% y a pesar de estos bajos valores de humedad el material se transforma en un fluido

dentro del extrusor. Bajo estas condiciones las características físicas de las materias primas, tales como el tamaño de partícula, la dureza y el grado de plastificación alcanzado durante el proceso de extrusión llegan a ser determinantes para la transformación final del material. Otra característica de la cocción por extrusión, como ya se dijo, es que resulta ser un proceso HTST pero que además, debido a los esfuerzos de corte que se desarrollan durante el transporte del material en el extrusor, la temperatura se eleva rápidamente (conversión de energía mecánica en calor por flujo viscoso) y así la estructura del material sufre transformaciones profundas en pocos segundos. La masa de partículas (harina de cereales y/o legumbres) más o menos hidratada, es convertida en un fluido de muy alta viscosidad. A medida que ese fluido es transportado, los elevados esfuerzos de corte en combinación con la alta temperatura, transforman a los elementos estructurales del material, es decir a los gránulos de almidón y a las estructuras proteicas. Por ejemplo: en la elaboración de productos expandidos tipo “snack” el almidón no solo pierde la estructura cristalina sino también la mayor parte de la estructura granular desaparece y los componentes del gránulo ( moléculas de amilosa y amilopectina), son dispersados en la matriz; en la elaboración de proteína vegetal texturizada (PVT) las partículas proteicas (o cuerpos proteínicos) son dispersadas y las reacciones proteicas desnaturalizadas, alineándose en las corrientes de flujo, de esta manera se facilita la formación de nuevos enlaces entre cadenas (“cross links”), los cuales otorgan al producto la resistencia a la disgregación por hidratación durante la preparación del alimento del que forma parte la (PVT). En la cocción por extrusión de materiales amiláceos, el término “grado de cocción” (GC) implica, no solo la pérdida de la estructura cristalina (mayor digestibilidad) sino también el grado de destrucción de la estructura granular del almidón.

### 1.3.1. Tipo de Extrusores.

Históricamente se registran los primeros extrusores para alimentos alrededor de 1870 (extrusor a pistón para salchichas y carnes procesadas), pero los extrusores a tornillos comienzan a ser utilizados por la industria alimentaria para elaborar fideos y dar formas a masas de cereales precocidas, entre 1935-1940 (extrusores formadores), luego los extrusores-cocedores aparecen entre 1940-1950 para elaborar “snaks” y harinas precocidas. (González, et al, 2002).

Existe una amplia variedad de extrusores los cuales se caracterizan no solo por la complejidad de los diseños, sino también por el grado de sofisticación en los sistemas de control de la operación. Como extremos pueden destacarse, por un lado, los de doble tornillo y por otro los monotornillos particularmente llamados de bajo costo tal como el diseño “Brady” (Harper, 1981).

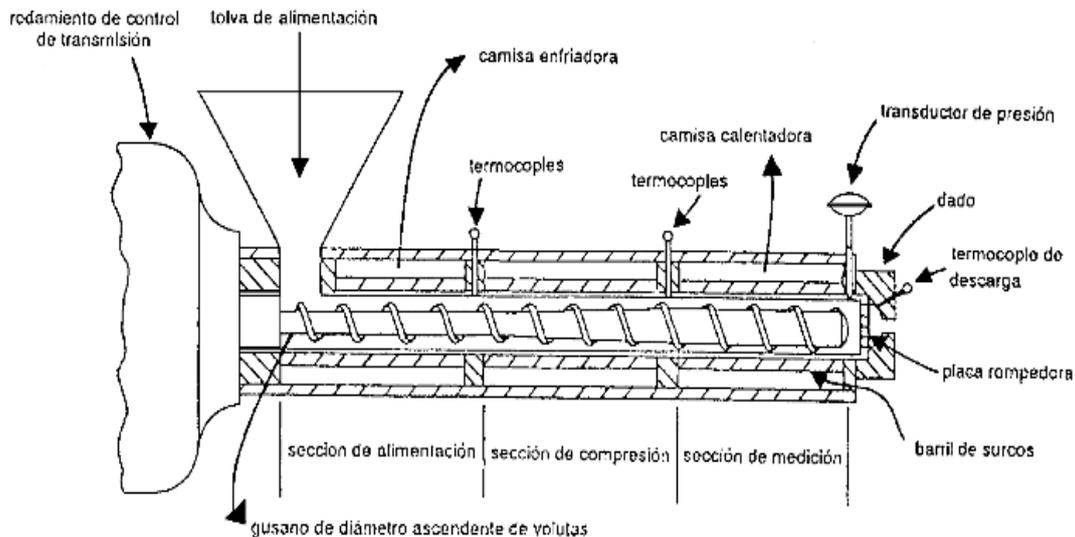
Los extrusores monotornillos funcionan como una “bomba de fricción”, es decir el material es transportado por el efecto de “arrastre”. El material alojado dentro del canal del tornillo es “empujado” hacia la salida por el frente de los filetes. Ese transporte se produce solamente si la fricción del material/harina o sémola sobre la superficie interna del cañón o cilindro, es suficientemente mayor que la fricción del material sobre la superficie del tornillo. Es decir que el material debe “agarrarse” a la superficie del cilindro para que la superficie del tornillo “resbale” sobre el material y así producir el transporte. Si por alguna razón el material se adhiere a la superficie del tornillo lo suficiente como para hacer “resbalar” el material sobre la superficie del cilindro el transporte se detiene y el material alojado en el canal del tornillo gira solidariamente con él. Este mecanismo se visualiza con el ejemplo de la mano” tomando “a una tuerca que esta en un bulón que gira. Si la mano no “toca” la tuerca esta gira junto al bulón y no se desplaza, pero cuando la mano “toca” la tuerca (lo “agarra”), la tuerca se desplaza hacia delante o hacia atrás según sea el sentido de la rosca. Para asegurar que este mecanismo se verifique la superficie del cilindro de los

extrusores cocedores llevan estrías (longitudinales o también helicoidales), mientras que la superficie del tornillo esta pulida.

El mecanismo de transporte de los extrusores de doble tornillo es muy diferente. Estos son verdaderas “bombas positivas”. Los filetes de ambos tornillos “solapan” o penetran cada uno dentro del canal del otro. De esta manera el “paso” de cada tornillo es interrumpido por el filete del otro formándose en cada tornillo una sucesión de “cámaras” con forma de “C” con los extremos desplazados, el caudal resultante es el producto del volumen total de cámaras “C” por la velocidad de rotación. Los extrusores de doble tornillo ofrecen ventajas, tales como un mejor control de la operación y una mayor diversidad de productos. Pero los extrusores monotornillo ofrecen todavía buenas alternativas para la cocción de cereales, debido a los menores costos operativos, de inversión y de mantenimiento.

En el extrusor monotornillo y para una operación normal de cocción se pueden encontrar tres secciones: alimentación, compresión y sección de bombeo o “metering”. Los límites de estas zonas no son fijos, sino que dependen del diseño y de las condiciones operativas. El material, que debe poseer una granulometría adecuada y uniforme, y con humedades que varían entre 10 y 35%, entra en la zona de alimentación y es transportado por acción del tornillo, en esta parte puede poseer filetes mas profundos para compensar el cambio de volumen que se produce en la zona o sección de compresión, asegurando el caudal másico que sale a través de la boquilla. El flujo sólido se va transformando hasta convertirse en flujo viscoso, mediante el cual la energía mecánica se disipa. Si esa transformación no se produce la operación se reduce al transporte del material y al pasaje a través de la boquilla (González, et al, 2002). En la sección de bombeo o “metering” la masa sufre las transformaciones mas importantes, quedando las partículas, que anteriormente formaban la sémola totalmente destruida y sus contenidos integrados en toda la masa. El grado de interacción y de modificación estructural dependerá de las variables de operación. Esta sección asegura un flujo uniforme a través de la boquilla. Cuando la

masa la atraviesa, la presión es liberada súbitamente permitiendo que el agua, en estado líquido sobrecalentada, se evapore instantáneamente (flashing), produciendo la expansión del material y dándole la típica estructura porosa.



**Figura 1.1:** Esquema que muestra las distintas zonas de un extrusor modelo. (González, 1988).

En caso de desear más expansión (con similar grado de cocción o de transformación) la zona de la boquilla debe ser refrigerada para reducir la temperatura y consecuentemente el “flashing”.

El material que es transportado dentro del extrusor puede recibir energía térmica por medio de 3 mecanismos:

1. Transferencia de calor a través de las paredes del cilindro con un fluido calefactor.
2. Aplicación de vapor directamente al interior del cilindro.
3. Disipación de energía mecánica por fricción interna del material.

Los cambios más importantes que ocurren dentro de extrusor, se producen a través del mecanismo de flujo viscoso, que es desarrollado en los tramos finales del

tornillo y que permite la suficiente destrucción de la estructura granular del almidón aumentando la solubilidad en agua de la fracción amilácea y provocando cambios en las propiedades reológicas que aseguran la expansión a la salida.

En algunos diseños los tres mecanismos pueden operar simultáneamente, cuando no se desean transformaciones profundas, es decir grados de cocción moderados, (moderada destrucción de la estructura granular) el tercer mecanismo debe mantenerse en bajos niveles (low shear cooking) mientras que cuando se desean transformaciones profundas, es decir, altos grados de cocción, el tercer mecanismo es el que controla el proceso (high shear cooking). (González, 1988).

El control del proceso es complicado debido a la compleja relación entre la transferencia de energía térmica y la cantidad de movimiento, acopladas con las complejas transformaciones físico-químicas que gobiernan las propiedades del producto.

Para el caso de extrusores monotornillo, las variables más importantes para determinar el grado de cocción del material son:

- ✓ Humedad.
- ✓ Temperatura.
- ✓ El diámetro de la boquilla.
- ✓ La relación de compresión del tornillo.

### **1.3.2. Principales variables en el proceso de extrusión:**

El grado de cocción (GC) se incrementa al aumentar la temperatura y la relación de compresión del tornillo y al disminuir la humedad y el diámetro de la boquilla. Una mayor velocidad de rotación se traduce en un menor tiempo de residencia y por lo tanto un menor grado de cocción pero simultáneamente es mayor el gradiente de velocidad y por lo tanto es mayor la intensidad de los esfuerzos de corte producidos. Dicha intensidad dependerá tanto de las características propias del material (dureza, forma, distribución de las partículas etc.) como del nivel de fricción

<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>	Humedad
	Tipo y composición del material
	Intercambio de calor
	Temperatura
	Grado de Alimentación
	RPM
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES DEL DISEÑO</b>	Geometría
	Cilindro
	Tornillo
	Boquilla
<b>RESPUESTAS</b>	Presión
	Temperatura
	Caudal Másico
	E Mecánica
	Distribución de tiempo de Residencia
	Propiedades del Producto

**Tabla 1.1:** Variables más importantes que intervienen en el proceso de extrusión (González, et al, 2002).

alcanzado, que a su vez depende de la presión y de la humedad. Es importante destacar que las transformaciones se producen en tiempos cortos y menores al tiempo de residencia medio. Otro aspecto a destacar es que la temperatura es considerada una variable independiente solo en el caso de la extrusión con control de temperatura desde el exterior, para el caso de extrusores autógenos la misma debe considerarse una respuesta (González, et al ,2002).

Las características de la masa que fluye dentro del extrusor y sus propiedades finales dependen de su composición: humedad, materia grasa, fibra, almidón, proteína, sales, emulsionantes y del diseño particular que provoca mayor o menor interacción partícula-partícula

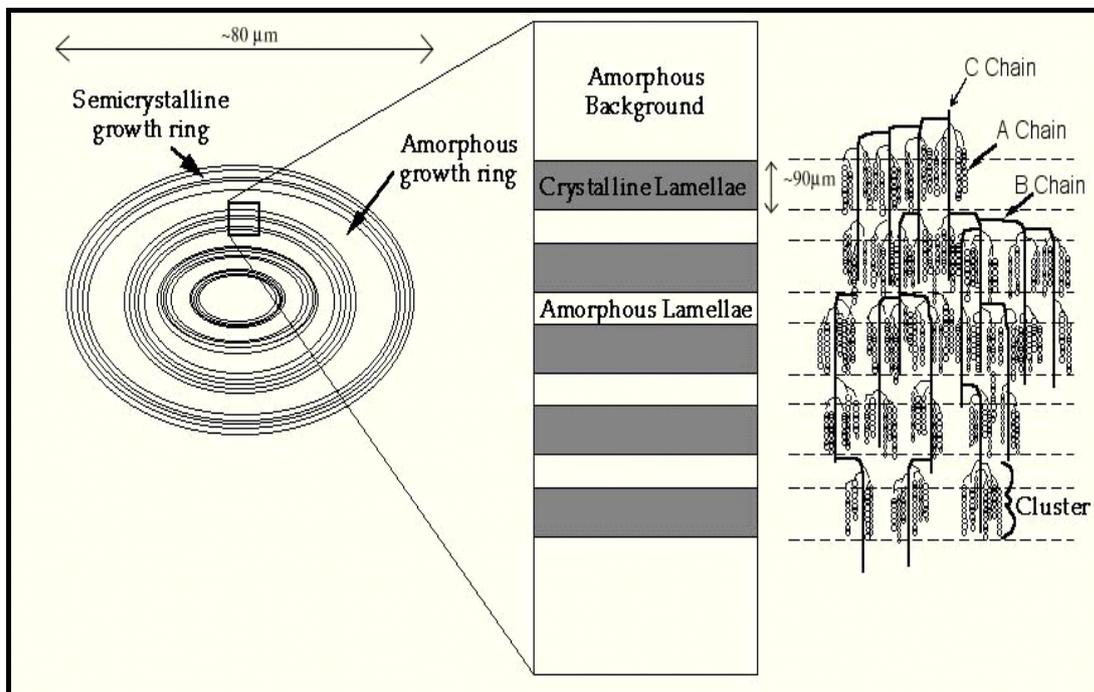
Definidas las condiciones de extrusión (relación de compresión del tornillo, velocidad de rotación, diámetro de la boquilla, nivel de temperatura a controlar (tanto en la zona del cilindro como de la boquilla), material a extrudir (tamaño de partículas, humedad, etc.), la operación es comenzada alimentando material con una humedad suficiente para evitar una excesiva presión inicial, luego se introduce el material en estudio manteniendo siempre llena a la zona de alimentación del tornillo. La toma de muestras se realiza una vez que se alcanza el estado estacionario, es decir cuando el caudal de salida ( $Q_s$ ), la presión y el torque (medido sobre el eje del motor), se mantienen constantes. Este caudal de salida, se refiere a la humedad de alimentación ( $Q_a$ ), habiendo sido previamente determinado el caudal másico de sólido seco ( $Q_{ss}$ ). (González, et al ,2002).

### **1.3.3. El Almidón: Principal formador de estructura en la Cocción por Extrusión.**

Muchos estudios reconocen que el almidón, como componente predominante en los cereales, juega un rol principal en la expansión, mientras que los otros ingredientes tales como proteínas, azúcares, grasas, y fibras actúan como “diluyentes”, con efectos diversos. Guy (Guy ,2001), ha propuesto un sistema para

clasificar los materiales de acuerdo con su funcionalidad utilizando un enfoque fisicoquímico.

En el almidón se distinguen dos tipos de polímeros: amilosa, esencialmente lineal y amilopectina, altamente ramificada. La amilosa se caracteriza por ser un polímero lineal de  $\alpha$ -D-glucosa unidas con enlaces  $\alpha$ 1-4, que tiene un peso molecular (PM) promedio aproximado  $2,5 \cdot 10^5$  Da. Mientras la amilopectina que también esta compuesta de  $\alpha$ -D-glucosa, unida primariamente por enlaces  $\alpha$ 1-4; está muy ramificada presentando de un 4 a un 5% de enlaces  $\alpha$ 1-6. Este nivel de ramificación produce una longitud de cadena promedio de 20 a 25 unidades de glucosa. La amilopectina tiene un peso molecular (PM) aproximado de  $10^8$  Da, y tomado un promedio de cadena de 20 unidades de glucosa resultan un numero total de cadenas del orden de 30.000. Estas cadenas son de tres tipos: cadena tipo A, compuesta de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ 1-4; cadena tipo B, compuesta de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ 1-4 y  $\alpha$ 1-6; cadena tipo C, compuesta de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ 1-4 y  $\alpha$ 1-6, incluido el grupo reductor (Figura 1.2)



**Figura 1.2:** Organización del gránulo de almidón a nivel supramolecular (Osella, 2000).

Ambos tipos de polímeros (amilosa y amilopectina) son altamente polidispersos, presentando un alto rango de PM. El rango de PM varia para cada fuente de almidón, por ejemplo la amilosa de papa posee un rango del grado de polimerización de 840 a 22.000 residuos de glucosa y el correspondiente de la amilosa de maíz de 400 a 15.000 residuos de glucosa.

Las cadenas de amilosa y amilopectina se encuentran formando gránulos, cuya morfología y organización supramolecular, esta determinada genéticamente. (Jovanovich, 1997). Los gránulos de almidón son parcialmente cristalinos y parcialmente amorfos. El carácter cristalino proviene de la organización de las moléculas de amilopectina dentro del gránulo, mientras que la región amorfa está formada por la amilosa que esta distribuida al azar entre los clusters de amilopectina. (Abd Karim, et tal, 2000). El enlace  $\alpha 1-4$  imparte a la “molécula” un giro natural, con lo que la conformación de las cadenas es helicoidal. El modelo actualmente aceptado para la conformación de la amilopectina es el de “clusters” o racemoso (Zobel, et tal 1988), que explica la presencia de zonas cristalinas (arreglos de doble hélice) y amorfa (zonas de ramificación densa), con parte de las cadenas lineales de amilosa co-cristalizadas. Otro modelo para la estructura del almidón propuesto por (Blanshard y Bowler, 1987) incluye a la amilosa y al complejo amilosa-lípido, distribuyéndolo en forma radial y paralela a las ramas de amilopectina.

El orden molecular en el almidón nativo se evidencia por la birrefringencia (Cruz de Malta) que presentan los gránulos cuando se observan bajo luz polarizada. El hecho de que el almidón sea birrefringente implica que hay un alto grado de orientación molecular en el gránulo, aunque la cristalinidad no es prerequisite de birrefringencia. El índice de refracción es mayor en la dirección radial, por lo que las macromoléculas están dispuestas perpendicularmente a la superficie del gránulo. Las estructuras, amorfa y cristalina del almidón y la relación entre ellas son los factores que determinan ciertas propiedades del almidón. Pudiéndose determinar la estructura cristalina del almidón por difracción de rayos X.

Se estima que el límite más bajo de contenido de almidón para obtener una buena expansión es del 60-70%. Se ha sugerido que un alto contenido de amilopectina conduce a la obtención de texturas expandidas homogéneas y elásticas, mientras que altos contenidos de amilosa conducen a extrudidos duros y menos expandidos. A un mismo contenido de humedad, los almidones ricos en amilopectina son más blandos que los almidones ricos en amilosa, lo que favorece la expansión.

Otro componente de este grupo son las proteínas, aunque no todas favorecen la expansión. El efecto de las proteínas sobre la expansión depende del tipo y concentración de la misma. Estas ejercen su efecto sobre la expansión a través de su capacidad de afectar la distribución del agua en la matriz y a través de su estructura y conformación macromolecular, lo que a su vez afecta a las propiedades del "melt" (masa en estado fluido).

#### **1.3.4. Transformaciones del Almidón en los Procesos de Cocción:**

El almidón puede sufrir diversas transformaciones, cuya intensidad depende de varios factores a saber: concentración, nivel de esfuerzos mecánicos durante el proceso de cocción, tiempo de tratamiento, temperatura alcanzada, velocidad de calentamiento, etc. Tales transformaciones pueden involucrar desde la pérdida de estructura cristalina sin ruptura del gránulo, hasta la dextrinización, es decir hidrólisis de los enlaces glicosídicos. Estados intermedios incluyen la cocción por extrusión, con la cual se puede alcanzar un estado del almidón caracterizado no solo por la pérdida de la cristalinidad sino también por la destrucción de la estructura granular.

La gelatinización es un proceso hidrotérmico (calentamiento en exceso de agua), mediante el cual el gránulo pierde la estructura cristalina y sufre un proceso de hinchamiento irreversible. La pérdida de la estructura cristalina ocurre a una cierta temperatura llamada (temperatura de gelatinización o TG), pero para que eso ocurra, el agua debe poder penetrar dentro del gránulo. Sin embargo cada gránulo posee su propia TG, debido a diferencias estructurales individuales (es la arquitectura lo que

determina la resistencia a hidratarse), así cuando se tiene una población de gránulos, se habla de rango de TG, y no de una TG fija. Por ejemplo, cuando la harina de maíz es calentada en agua y mantenida a 100 °C durante 30 min, prácticamente todos los gránulos de almidón contenidos en las partículas de harina pierden la estructura cristalina (desaparición de la “cruz de Malta”). Sin embargo, en ensayos realizados en el laboratorio del ITA (Instituto de Tecnología de Alimentos-Fac de Ing Química-UNL), se ha podido observar que en los granos de maíz enteros, aún luego de 60 min de cocción en agua a 100 °C, la mayor parte de los gránulos de almidón, mantienen su estructura cristalina y la proporción de éstos es mayor cuanto mayor sea la dureza del endospermo. Este fenómeno está relacionado con el hecho de que la temperatura a la cual la estructura cristalina se desestabiliza, depende del contenido de agua dentro del gránulo, a medida que la cantidad de agua disponible para hidratar el gránulo disminuye, la temperatura de transición (cristalina–amorfa), aumenta (Blanshard, 1987). Es sabido que las proteínas de reserva del maíz (mayoritariamente las zeínas) son insolubles y no hidratables y constituyen verdaderas barreras a la penetración del agua en el citoplasma de las células del endospermo, donde los gránulos de almidón se encuentran dispersos.

Una vez completado el proceso de gelatinización e hinchamiento, al enfriar la dispersión, se produce otro proceso llamado retrogradación, involucra la asociación por puente hidrógeno, de cadenas de las amilosa que han sido dispersadas fuera del gránulo, formándose una nueva estructura (tipo “gel”) que incluye a los restos de gránulos parcialmente dispersados. Este proceso, cinéticamente lento, culmina con la separación de dos fases: una fase acuosa en la capa superior y una fase “gel”, en la parte inferior. Esta separación es llamada “sinéresis”. La velocidad a la que ocurre este fenómeno puede alterarse, variando las condiciones del proceso de cocción o agregando aditivos que retardan la asociación molecular. La agregación producida por la asociación de moléculas de amilosa es relativamente rápida, en cambio el correspondiente a la amilopectina transcurre mucho más lentamente, esto es debido al

impedimento estérico de sus ramificaciones. La malla formada por estas macromoléculas atrapa o retiene a los fragmentos de gránulos, aumentando considerablemente la viscosidad de la pasta, la cual a temperatura ambiente adquiere apariencia de gel.

El proceso de gelatinización, como ya se ha dicho involucra el hinchamiento y dispersión del gránulo. No obstante no todos los almidones pueden ser dispersados totalmente en agua cuando se los cocina a 100 °C. Los almidones de papa, mandioca y los de cereales tipo “waxy” (escaso contenido de amilosa), son fácilmente dispersables, en cambio el almidón de cereales con almidón “normal” (contenido de amilosa entre 25 y 30 %) solo puede ser totalmente dispersado en condiciones extremas (temperaturas mayores a 100 °C y suficiente tiempo de tratamiento), por ejemplo el almidón de maíz se puede dispersar a 140 °C en 10 minutos (este es el tratamiento utilizado para la hidrólisis del almidón en el proceso de obtención de jarabes de glucosa).

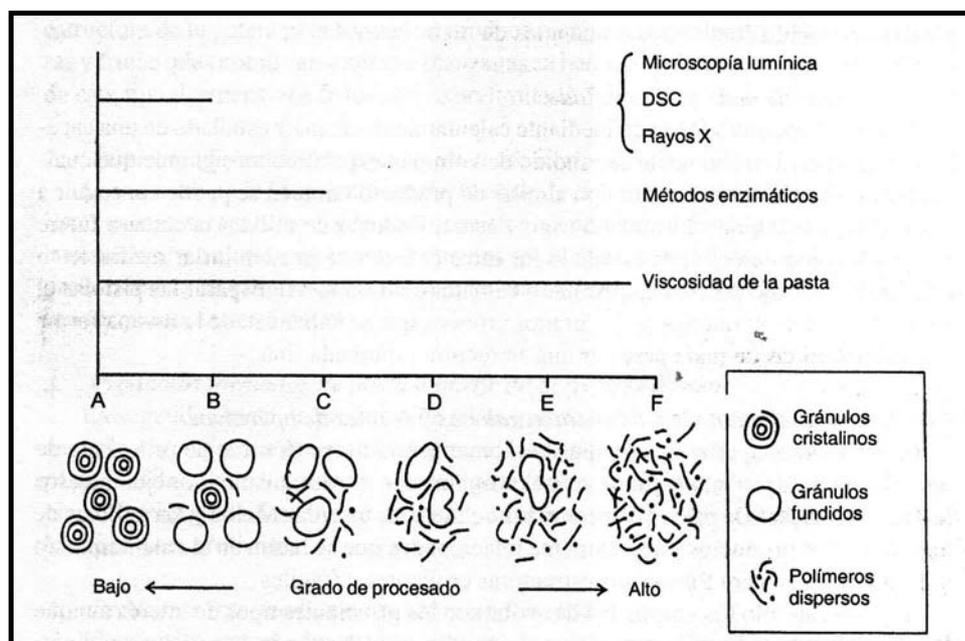
Cuando el proceso de cocción se realiza a niveles de contenido de agua inferiores a 30 % (como es el caso de la cocción por extrusión), ya no se verifica el proceso de hinchamiento, y la transformación estructural del almidón, dependerá no solo de la temperatura alcanzada y del contenido de agua, sino también del nivel de esfuerzos de corte al que se haya alcanzado durante la extrusión. De esta forma se podrá alcanzar un grado de transformación que puede variar desde un estado caracterizado por una mezcla de: gránulos enteros (con y sin la “cruz de malta”), conjuntamente con gránulos rotos o parcialmente dispersos, hasta un estado caracterizado por la ausencia de estructura granular, en el cual predomina la dispersión de macromoléculas.

En cuanto a los almidones pregelatinizados, estos son una forma de almidón modificado que se caracteriza por captar agua rápidamente a temperatura ambiente y formar pastas uniformes, por esto son utilizados para la elaboración de productos instantáneos (sopas, cremas, flanes instantáneos, etc).

Con respecto a la dextrinización se debe decir que se produce esencialmente por dos vías: una por vía ácida y la otra por acción enzimática (amilasas), en ambos casos se produce la hidrólisis de los enlaces glucosídicos. El grado de dextrinización se puede medir a través de grupos reductores libres y expresarlo como equivalente de glucosa.

### 1.3.5. Evaluación de las Propiedades de los Productos Obtenidos por Extrusión.

La base de la producción de cereales precocidos por extrusión, descansan en la transformación del almidón, que permite la expansión y la formación de una nueva estructura que contribuye a la estabilidad del producto. Los cambios producidos en los materiales amiláceos durante la extrusión han sido extensamente discutidos y la complejidad de las transformaciones producidas pueden ser analizadas por diferentes métodos de acuerdo a la severidad del tratamiento aplicado como puede observarse en la **Figura 1.3** (Robutti, et al, 2002; Biliaderis, 1991; Colonna, et al, 1987; González, et al, 1986, 1987; Kokini, et al, 1992b; Mason, et al, 1986).



**Figura 1.3:** Diagrama de las formas físicas del almidón y los métodos de evaluación.

De los distintos tipos de productos a base de cereales precocidos por extrusión, se pueden agrupar en dos grandes grupos: Los productos expandidos (para elaborar “snacks”) y harinas precocidas para preparar dispersiones (polenta, papillas y sopas cremas).

### **1.3.6. Efectos de las variables de extrusión sobre la expansión.**

Una de las propiedades más importantes de los productos extrudidos tipo “snack” es la textura, la cual estará muy relacionada a la expansión. Al respecto, cabe mencionar que si bien se ha demostrado que la expansión del producto ocurre en las direcciones longitudinal y radial, la expansión radial es la más simple de determinar y refleja la expansión global (Maroulis, 2004).

De las distintas variables que afectan a la expansión, la humedad es la más significativa (González, et al ,2002), aunque también son relevantes, la temperatura alcanzada por el material antes de pasar por la boquilla, la relación de compresión, diámetro de la boquilla y la velocidad del tornillo. Además para los productos expandidos, el consumo específico de energía mecánica (CEEM) es un buen indicador del grado de cocción, ya que representa la energía mecánica entregada al material. Esta se calcula de la siguiente manera:

$$CEEM [joule/g] = 61,3 \cdot 10^{-3} \text{ Torque} \times rpm / \text{Caudal másico} \quad (1)$$

A mayor CEEM, mayor será la intensidad de las transformaciones del almidón. Sin embargo a medida que aumenta el grado de cocción (grado de destrucción de la estructura cristalina y granular), la expansión crece hasta un valor máximo, a partir del cual ésta disminuye, como consecuencia de la disminución de la elasticidad del “melt”. Por su parte también la temperatura se relaciona directamente con el grado de cocción, y por ende la expansión también mostrará un máximo con la temperatura. Similarmente, a mayor relación de compresión y menor diámetro de boquilla, mayor será la presión alcanzada (mayor intensidad de los esfuerzos de corte) y por lo tanto mayor será el grado de cocción. Con respecto a la velocidad del tornillo, como ya se

ha explicado anteriormente, su efecto sobre el grado de cocción depende del nivel de las otras variables, pero en general a mayor velocidad de rotación del tornillo, mayor expansión.

### 1.3.6.1. Características reológicas de dispersiones de harinas precocidas.

#### a) Aspectos teóricos sobre la viscosidad de alimentos.

La viscosidad de un fluido ( $\eta$ ) se define como la fricción interna o su resistencia al flujo. Su expresión matemática está determinada por la relación entre el esfuerzo de corte ( $\tau$  o fuerza por unidad de área tangencial) y el gradiente de velocidad ( $D$  o variación de la velocidad en la dirección perpendicular al plano de aplicación del esfuerzo de corte). Así la viscosidad de un fluido queda expresada como:

$$\eta = \frac{\tau}{D} \quad (2)$$

La viscosidad o coeficiente de viscosidad se expresa en poises (dinas.s.cm<sup>-2</sup>) o en Pa.s, correspondiendo a 1 poise 0,1 Pa.s. Para un fluido newtoniano la viscosidad es independiente de  $D$ , solo depende de la temperatura y de la composición. Para un fluido no-newtoniano,  $\tau = f(D)$ , ya no presenta un comportamiento lineal. Para estos casos la viscosidad puede crecer (fluido dilatante) o disminuir (fluido pseudoplástico) con el aumento de  $D$ . Entonces la viscosidad para un dado valor de  $D$  se expresa como viscosidad aparente:

$$\eta_{ap} = \frac{\tau}{D} \quad (3)$$

Para describir el comportamiento del fluido se realiza el reograma:  $\tau = f(D)$ . La clasificación del comportamiento reológico para fluidos está basada en ese comportamiento. Por ejemplo, se pueden reconocer dos grandes tipos de fluidos: aquellos cuyos reogramas arrancan desde el origen, es decir para  $D=0$ ,  $\tau=0$  (fluidos

puros) y aquellos en cuyos reogramas se observa la existencia de una tensión inicial  $\tau_0$  a partir de la cual comienza a crecer  $D$ , es decir, comienza a fluir. Estos son los llamados fluidos plásticos. Para el caso de los fluidos puros, la función matemática más utilizada para representar el comportamiento es la función de potencia:

$$\tau = kD^n \quad (4)$$

Cuando  $n$  es mayor a 1 el fluido es dilatante, cuando  $n$  es menor a 1 es pseudoplástico y cuando  $n$  es igual a 1, es newtoniano. Para el caso de los fluidos plásticos, también se utiliza la función de potencia pero agregando la tensión inicial o de fluencia:

$$\tau = \tau_0 + kD^n \quad (5)$$

En el caso particular de que  $n$  sea igual a 1, el modelo corresponde al plástico de Bingham (Muller, 1973). En realidad, se han propuesto otras clasificaciones tratando de agrupar los distintos modos de comportamiento de los materiales. No obstante, se debe reconocer que tales comportamientos están incluidos en toda la gama que va desde un extremo caracterizado por el sólido elástico ideal (modelo de sólido elástico que sigue la ley de Hooke) al otro extremo caracterizado por el fluido newtoniano. Así, se incluyen los sólidos viscoelásticos, los fluidos viscoelásticos, los plásticos inelásticos, etc. (Muller, 1973).

En general, las soluciones acuosas con solutos de bajo peso molecular, tales como: jugos de frutas clarificados, jarabes de azúcar, bebidas carbonatadas, etc. presentan comportamiento newtoniano. Las dispersiones (emulsiones, suspensiones, etc.) son en general no newtonianas. Aunque, en condiciones diluidas pueden presentar comportamiento newtoniano (Prentice, 1984). La concentración a la cual el comportamiento no newtoniano se hace evidente depende del tamaño y morfología de

los componentes de la dispersión. Por ejemplo, la leche presenta comportamiento newtoniano en un amplio rango de concentraciones, mientras que para dispersiones de proteínas de soja el comportamiento no newtoniano aparece a concentraciones superiores al 6%. En estos dos sistemas, las partículas dispersas presentan morfologías globulares y el alejamiento del comportamiento newtoniano se atribuye a las fuerzas de interacción entre partículas (Dickinson y McClements, 1996). Un caso particular, lo constituyen las dispersiones de macromoléculas tales como las gomas (xántica, guar, alginatos, carrageninas) para las cuales el comportamiento no newtoniano aparece en concentraciones tan bajas como del 1%, siendo más pronunciado para la goma xántica que para las otras, lo cual es atribuido a la mayor intensidad de interacciones moleculares que presenta, promovida por su estructura ramificada (Morris, 1998).

Finalmente, se puede mencionar el caso de las dispersiones de almidón, para las cuales el alejamiento del comportamiento newtoniano también se produce a bajas concentraciones.

A medida que la concentración de la dispersión aumenta, la viscosidad va aumentando, al principio de manera lineal y luego, a partir de una cierta concentración crítica, el incremento es de mayor orden, el cual depende del tamaño y forma de las partículas; pudiéndose utilizar una función de potencia cuyo exponente expresa la intensidad de las fuerzas de interacción entre partículas:

$$\eta = K C^m \quad (6)$$

donde:  $\eta$ : viscosidad a un gradiente de velocidad constante,  $C$ : concentración de sólidos en g 100 g<sup>-1</sup>,  $K$  y  $m$ : parámetros de la regresión.

Superada la concentración crítica (alejamiento del régimen diluido) las partículas hidratadas interaccionan entre sí. Tales interacciones se hacen más evidentes cuanto mayor es el radio hidrodinámico y mayores son las fuerzas de

atracción entre partículas. Estas fuerzas de interacción determinan el comportamiento viscoelástico de las dispersiones concentradas (Harrod, 1989).

#### **b) Harinas precocidas:**

En la evaluación de las harinas precocidas se tiene en cuenta la absorción de agua y por otro lado la solubilidad o dispersibilidad en agua, las cuales están inversamente relacionadas (González et al, 1986). Los cambios producidos sobre la estructura granular del almidón afectan a las propiedades de hidratación y la proporción de sólidos dispersables y gránulos (o restos de gránulos hinchados) que determinarán las características reológicas de la dispersión de harina precocida.

Un número considerable de trabajos en la literatura muestran el efecto del proceso de gelatinización sobre la reología final del producto. La gelatinización induce un incremento de la viscosidad como resultado de los cambios estructurales, tales como el hinchamiento de los gránulos, fusión de los cristales, entre otros. Cuando se alcanza el máximo hinchamiento, los gránulos se rompen provocando un decrecimiento de la viscosidad de la dispersión (Lagarrigue y Álvarez, 2001).

Los conocimientos sobre la viscosidad y propiedades de flujo de las dispersiones son de importancia práctica en la formulación de alimentos. Para el caso de alimentos fluidos tales como: sopas crema, bebidas, etc. la obtención de reogramas obtenidos con viscosímetros adecuados tales como los de cilindros concéntricos (de separación pequeña entre cilindros o "narrow gap") es suficiente para caracterizar tales fluidos. No obstante, para el caso de sistemas concentrados tales como pastas, emulsiones, geles, etc. la evaluación reológica se complica ya que las características viscoelásticas deben ser tenidas en cuenta (Bistany y Kokini, 1983).

La viscosidad de las dispersiones está influenciada por las propiedades hidrodinámicas de sus componentes, por ejemplo, el tamaño y la forma de las partículas. Éstas a su vez son afectadas por el pH, fuerza iónica y los tratamientos

durante el procesamiento, que alteran la conformación, la estructura, el grado de agregación, la hidratación y el hinchamiento (Dintzis, 1995).

#### 1.4. FORMULACION DE ALIMENTOS DE INTERES SOCIAL.

##### 1.4.1. Distintos aspectos a tener en cuenta en la Formulación de Alimentos.

En la formulación de alimentos se deben tener en cuenta varios aspectos (Tabla1.2) no obstante la calidad proteica, la densidad de micro nutrientes y su biodisponibilidad son tal vez los más relevantes.

Aspectos nutricionales	Aspectos Sensoriales	Aspectos Tecnológicos	Aspectos Económicos:
Densidad calórica	Características que definen la aceptabilidad	Viabilidad del proceso de producción	Uso de materias primas locales
Valor biológico de las proteínas	Tolerancia al consumo prolongado	Uso de tecnología apropiada	Precoccción- Practicidad
Relación proteínas/calorías			Relación costo /Eficacia
Aporte vitamínico y mineral			Volumen de mercado

**Tabla1.2** Aspectos a tener en cuenta en la formulación de lo alimentos

Teniendo en cuenta los aspectos mencionados surge claramente que, de las diferentes fuentes de proteínas y calorías disponibles, las leguminosas y los productos amiláceos (cereales y tubérculos) son los más indicados en la formulación de alimentos de alto valor nutritivo y bajo costo. Los componentes básicos de estas materias primas son obviamente las proteínas y los almidones cuyas características y

propiedades son muy dependientes de los tratamientos físicos y/o químicos que sufren durante el procesamiento. En lo referente a la complementación de cereales, se parte de la base de que, la “calidad” de una proteína depende de la naturaleza y cantidades de AA que contiene; y que una proteína “equilibrada” o “de alta calidad” contiene los AA esenciales en proporciones correspondientes a las necesidades humanas. En consecuencia es posible compensar las deficiencias en AA, de una proteína de “baja calidad” mediante un alimento que contenga varias proteínas o proporciones complementarias de AA, mejorando así el equilibrio en AA esenciales.

#### **1.4. 2. Algunos ejemplos de productos**

##### **1.4.2. a. Snack:**

Para el caso de este tipo de productos las proteínas de cereales como el maíz son pobres en lisina y ricas en AA azufrados y las proteínas de leguminosas, son ricas en lisina y pobres en AA azufrados (Messina, 1999); la mezcla de estas dos fuentes satisface las exigencias para que exista complementación aminoacídica, mejorando el perfil de AA (Cheftel, et al, 1989; Gómez, 1985).

##### **1.4.2. b. Sopas tipo cremas:**

Las mezclas comerciales utilizadas para preparar sopas cremas instantáneas tienen como principal componente al almidón (nativo y/o modificado), el cual le otorga una textura cremosa. Estas preparaciones normalmente requieren la cocción de algunos minutos, lo que permite la hidratación y el hinchamiento de los gránulos de almidón. La viscosidad de la dispersión es la propiedad determinante de la aceptabilidad, aunque otros atributos tales la como la suavidad, el aroma y el gusto, son también importantes (González, et al, 1991).

En las preparaciones comerciales la densidad energética de la ración no es un factor relevante, y es sabido, que la concentración de sólidos de dichas preparaciones está comprendida entre 5-8 % ( $P_{bs}/P$ ). La densidad energética de estas preparaciones

puede incrementarse aumentando el contenido de lípidos, o bien provocando cambios estructurales en los gránulos de almidón de manera tal que el radio hidrodinámico de las partículas hidratadas sea menor que el correspondiente a la de los gránulos de almidón gelatinizados e hinchados (González, et al, 1986).

La tecnología de extrusión permite obtener harinas precocidas, cuyas dispersiones pueden presentar menor viscosidad que las correspondientes a las obtenidas por otros métodos de cocción. Este efecto es atribuido a que durante el proceso y por acción de los esfuerzos de corte involucrados, se produce una ruptura de la estructura granular del almidón (Maroulis, et al, 2004). Así, las dispersiones de harinas precocidas por extrusión pueden presentar niveles de viscosidad inferiores permitiendo incrementar la concentración de sólidos en la ración y por ende la densidad energética (González, et al ,1991). Otra ventaja que ofrece la extrusión, es que se pueden extrudir mezclas de harinas de cereales con las de legumbres y consecuentemente obtener mezclas precocidas homogéneas con aumento, tanto de la cantidad como de la calidad proteica (Gómez, 1985).

### **1.4.3. BIODISPONIBILIDAD DE NUTRIENTES**

#### **1.4.3.1. Biodisponibilidad: Concepto.**

La digestión de los alimentos, implica una serie de reacciones químicas y biológicas complejas. Durante este proceso, los micronutrientes pueden reaccionar con los productos de la digestión para dar lugar a distintas especies químicas. La capacidad del organismo para absorberlas y trasportarlas depende de la naturaleza de esas especies químicas involucradas y de las interacciones intraluminales que se producen con otras sustancias que pueden actuar como promotoras o inhibidoras de la absorción. (Robb, et al ,1986).

Para estimar el aporte de un mineral por parte de la dieta no alcanza con determinar el contenido total, sino que es preciso conocer que cantidad que se absorbe y se utiliza, o sea, lo que se conoce como biodisponibilidad (O'Dell, 1985).

La biodisponibilidad se define como la fracción de nutriente presente en un alimento o dieta que se digiere, absorbe y metaboliza, por vías normales para cumplir las funciones que le son propias. (Fairweather-Tait, 1987).

#### **1.4.3.2. Factores que influyen en la biodisponibilidad de los elementos traza.**

##### **Factores intrínsecos o fisiológicos**

- ✓ especie animal.
- ✓ edad.
- ✓ características y anomalías genéticas
- ✓ estados fisiológicos (embarazo y lactancia).
- ✓ estados nutricionales y patológicos.
- ✓ flora intestinal, pH de los jugos gástricos e intestinales.
- ✓ Capacidad individual de adaptación a variaciones en el aporte de nutrientes.

##### **Factores extrínsecos o dietéticos**

- ✓ aporte total del elemento por la dieta.
- ✓ forma química del elemento.
- ✓ propiedades físicas: solubilidad y capacidad de adsorción sobre componentes inertes de los alimentos.

- ✓ propiedades químicas: reacción con otros componentes de la matriz alimentaria.
- ✓ propiedades bioquímicas: capacidad de competir con otros elementos por sitios activos del organismo.

(Barberá, 1992)

#### **1.4.3.3. Estimación de la biodisponibilidad**

Para determinar la biodisponibilidad de un nutriente hay que tener en cuenta la interacción con sustancias que favorecen y que inhiben la absorción, el porcentaje del elemento que es absorbido y el que es utilizado. Por consiguiente, la única medida real será proporcionada por la evaluación *in vivo*, aunque para evaluar la respuesta del organismo frente a alimentos y nutrientes se necesitan buenos indicadores del estado funcional, que en general no se disponen. Los parámetros y las técnicas utilizadas en la actualidad sólo proporcionan aproximaciones al valor real. (Barberá, 1992) En los ensayos *in vivo* debe diferenciarse entre estudios realizados con marcas isotópicas intrínsecas o extrínsecas, con un solo isótopo o doble isotópico, con isótopos estables o radiactivos y estudios realizados con animales o los efectuados en seres humanos. La posibilidad de realizar estudios de biodisponibilidad en humanos, mediante técnicas no invasivas, permite descartar los ensayos con animales, aunque los ensayos clínicos son costosos, laboriosos, difíciles de llevar a cabo con precisión y además requieren amplias precauciones y material sofisticado, que sólo están al alcance de escasos laboratorios. (Barberá, 1992).

Varias técnicas *in vitro* han sido desarrolladas para estimar la biodisponibilidad que comprenden desde medidas de solubilidad, dispersibilidad, dializabilidad en equilibrio o continua, (Watzke., 1998). Los métodos de digestión simulada *in vitro*, pretenden estimar el porcentaje de nutriente capaz de ser transformado en el tracto gastrointestinal, en una forma absorbible. Consisten básicamente en un tratamiento

enzimático en dos etapas, la primera con pepsina a pH 2 y la segunda con pancreatina y bilis, a pH neutro. Luego de estos tratamientos, se determina la solubilidad o la dializabilidad de los minerales estudiados (Barberá, 1992). Algunos autores separan las fracciones solubles por filtración (Narasinga y Prabhavati, 1978), por diálisis (Miller et al, 1981) o por centrifugación (Crews, et al, 1983). Los ensayos *in vitro* constituyen una interesante alternativa frente a los ensayos *in vivo*. Son sencillos, rápidos, económicos y proporcionan información sobre determinados aspectos, que no pueden obtenerse en los ensayos con animales. (Miller, et al, 1981). No predicen los cambios *in vivo*, pues no pueden simular factores fisiológicos: como el estado nutricional, secreción gastrointestinal, transporte activo, interacciones con la mucosa, flora y tránsitos intestinales o algunas propiedades fisicoquímicas que influyen en la biodisponibilidad mineral, aunque son importantes para comprender los ensayos *in vivo*. (Clydesdale, 1983; Snape, 1987; Miller y Berner, 1989).

Los métodos para el estudio de la biodisponibilidad se han aplicado a diferentes minerales en los alimentos y al estudio de la influencia de los distintos componentes de la matriz alimentaria. El elemento objeto de mayor número de estudios es el hierro, por su importancia en la etiología de la anemia ferropénica. (Barberá, 1992).

#### **1.4.3.4. Biodisponibilidad del hierro**

El organismo requiere hierro para varias funciones, por ejemplo para la síntesis de la proteína transportadora de oxígeno, la hemoglobina y la mioglobina, para la formación de enzimas hemínicas, las cuales participan en reacciones de oxidoreducción y transferencia de electrones. (Hurrell, 1997).

El hierro es absorbido en el duodeno y atraviesa las células de la mucosa hacia la sangre, donde es transportado por la transferrina a las células del organismo o a la médula para la eritropoyesis. El cuerpo regula la homeostasis del hierro por control de la absorción. La absorción aumenta durante la deficiencia de hierro y cuando las

necesidades fisiológicas están incrementadas. El organismo tiene una capacidad límite para excretar al hierro, que cuando está en exceso es almacenado como ferritina o hemosiderina en el hígado, en el bazo y en la médula (Hurrell, 1997).

El hierro se encuentra en los alimentos en forma hemínica o no hemínica. La biodisponibilidad del hierro hemínico, el cual se encuentra en las carnes, es alta en comparación con la del hierro no hemínico. Esto se debe a la naturaleza fisicoquímica del grupo hemo. El hierro hemínico es más soluble en las condiciones neutras del intestino, que en las ácidas del estómago y se absorbe en forma intacta dentro de la mucosa intestinal (Clydesdale; 1983).

El hierro no hemínico constituye del 80 al 90% del hierro, procedente en su mayor parte de los alimentos de origen vegetal (Barberá, 1992). La absorción del hierro es afectada por promotores e inhibidores presentes en la dieta:

Dentro de los inhibidores se destacan:

- ✓ el ácido fitico
- ✓ los componentes polifenólicos presentes en vegetales
- ✓ el calcio
- ✓ los péptidos que se generan en la digestión de las proteínas de origen vegetal.

El ácido fitico se encuentra presente en los granos de los cereales y en las legumbres, es el principal factor que influye en la disminución de la biodisponibilidad del hierro en estos alimentos (Hurrell, 1997). La hidrólisis de los fitatos ocurre en algunos procesos, tales como el remojo de los granos, la fermentación, la germinación y la extrusión-cocción (Sandberg, 1991). En los tres primeros casos, se activan las fitasas endógenas de los granos del cereal o de las harinas, las que degradan al ácido fitico (hidrolizando el mio-inositol hexafosfato a mio-inositol y fosfato inorgánico), mejorando la absorción del hierro (Hurrell, 1997).

Los compuestos fenólicos presentes en vegetales incluyen: ácidos fenólicos, flavonoides y sus productos de polimerización. Estos son particularmente altos en el té, café, cacao y en el vino tinto. Los compuestos fenólicos han mostrado ser inhibidores de la absorción del hierro (Hurrel, 1997). Se observó que el tanino, un compuesto polifenólico, reduce la absorción del hierro cuando se incorpora en la dieta en altas cantidades. El ácido clorogénico, un compuesto fenólico del café, es un inhibidor que reduce un 40% la absorción del hierro presente en carnes y un 60% el del té (Hurrel, 1997).

El calcio puede inhibir la absorción del hierro. El nivel de inhibición depende: de la cantidad de calcio consumido, de la ración y de la composición de los alimentos (Hurrel, 1997).

Durante la digestión, las proteínas son hidrolizadas a péptidos, los cuales pueden unirse al hierro en el lumen intestinal e influenciar su absorción. Los péptidos pueden tanto inhibir como mejorar la absorción del hierro dependiendo de su naturaleza. (Hurrel, 1997). Las proteínas de los vegetales, de la leche y de los huevos inhiben la captación del hierro no hemínico, si se compara con lo que sucede con las carnes o con las dietas de bajo contenido proteico (Kane y Miller; 1984).

La capacidad de mejorar la absorción del hierro no hemínico en alimentos está relacionada no sólo a la solubilización del hierro no complejado, sino también a la capacidad de remover y solubilizar el hierro de complejos insolubles (Clydesdale, 1983).

Dos potentes promotores de la absorción del hierro son el ácido ascórbico y la carne, que actúan reduciendo el hierro férrico a ferroso y/o complejando el  $\text{Fe}^{+3}$  (South, 1997). El ácido ascórbico es efectivo para aumentar la absorción del hierro no hemínico, tanto en forma natural (frutas y vegetales) como componente libre. En altas concentraciones puede superar la inhibición del ácido fítico en los cereales y puede parcialmente disminuir el efecto de los polifenoles en el té (Hurrel, 1997). Su efecto

promotor de la biodisponibilidad del hierro depende del tratamiento térmico a que se somete el alimento, de la fuente de hierro, del valor del pH (Barberá, 1992) y de la dosis. Cuando el ácido ascórbico es oxidado durante los procesos de almacenamiento o cocción, el efecto mejorado se pierde (Benito, 1998).

#### **1.4.3.5. Impacto de algunas operaciones sobre la biodisponibilidad del hierro**

Algunos autores realizaron investigaciones en todas las etapas de un proceso de elaboración de un producto tipo snack, estudiando la biodisponibilidad de minerales en cada etapa del mismo. (Watzke, 1998).

La refinación del grano entero de maíz, por una fina molienda que condujo a una remoción completa de la cáscara y del germen, resultó en un leve incremento del hierro absorbible. Sin embargo, se observó que el contenido de hierro fue fuertemente reducido por el proceso de molienda. Los autores explicaron el incremento de la absorción del hierro debido a la pérdida parcial de ácido fitico y de fibras. (Watzke, 1998).

En la formulación de los productos tipo snack se usaron otras fuentes de almidón (como batata, trigo o harina de arroz) para generar una variedad de sabores y texturas diferentes. Se observó que la mezcla de batata y maíz exhibió una mayor dializabilidad de hierro que aquella elaborada a base de maíz. Los autores explicaron que los altos valores de dializabilidad del hierro de los flakes de batata –maíz se debieron al alto contenido de ácido ascórbico y ácido cítrico de la batata, que mejoran la biodisponibilidad de hierro (Watzke, 1998).

La extrusión–cocción como ya se dijo es un proceso que involucra altas temperaturas y corto tiempo (HTST). La elevada fuerza de corte durante la extrusión afecta a las biomoléculas provocando ruptura en los enlaces covalentes (Watzke, 1998).

Los productos extrudidos presentan un pequeño aumento en la dializabilidad del hierro (Watzke, 1998). Hazell y Johanson (1987/1989) propusieron que los productos de la reacción de procesos de depolimerización bajo la alta temperatura y esfuerzos de corte podrían cambiar la forma química del hierro haciéndolo más soluble.

En la etapa en que los snacks fueron fritos y saborizados no se observó ninguna modificación en la biodisponibilidad del hierro a pesar de la presencia de antioxidantes (ácido ascórbico), secuestrantes (ácido cítrico) y acidulantes (ácido acético) que se usaron en la saborización.

#### **1.4.3.6. Biodisponibilidad del cinc**

La deficiencia de cinc en humanos afecta el crecimiento, la maduración sexual y el sistema inmunológico. La homeostasis del cinc se mantiene en un amplio rango, por el incremento o disminución tanto de la absorción del cinc intestinal como de la excreción intestinal endógena. La baja proporción de cinc ingerido, conjuntamente con una disminuida biodisponibilidad y el incremento de las necesidades durante el crecimiento o la reproducción llevan a una deficiencia en este elemento (King, et al; 2000). En los países desarrollados, la carne, los alimentos de mar y los productos lácteos son la fuente primordial de cinc, resultando un 70% del total de cinc ingerido. En países donde la ingesta de productos animales es baja, los cereales y las legumbres proveen la mayoría del cinc dietario (King, et al; 2000).

Las principales sustancias inhibidoras de la absorción del cinc son el ácido fítico de los cereales y legumbres y los compuestos polifenólicos del té y café. Dentro de los mejoradores se destacan el ácido ascórbico de frutas y vegetales y péptidos parcialmente digeridos provenientes del tejido muscular. La proteína animal

contrarresta el efecto inhibitor del ácido fítico sobre la absorción del zinc. (King, et al; 2000).

La técnica más empleada es la isotópica dual, que consiste en la administración de dos isótopos, uno oral y otro intravenoso, la absorción de zinc es estimada a partir de la relación entre la concentración isotópica oral e intravenosa en plasma y/o orina luego de 3 a 5 días después de la administración. Este método sólo requiere muestras de sangre u orina, por lo tanto es el método preferido para medir la absorción de zinc en humanos (King, et al; 2000).

#### **1.4.3.7. Digestibilidad proteica**

La digestibilidad de las proteínas se considera como un indicador de su calidad. Se sabe que los alimentos de origen animal presentan mayor digestibilidad que los de origen vegetal. Esto se ha atribuido al menor contenido de fibra cruda de los alimentos de origen animal, lo que hace que la velocidad de tránsito intestinal sea menor y en consecuencia, se obtenga una mayor absorción de nutrientes (Hernández; et al, 1984). Además, la estructura terciaria de las proteínas animales es menos compleja que la de los vegetales, por lo que es más fácilmente digerida por las enzimas gastrointestinales. Otros factores que disminuyen la digestibilidad proteica de los alimentos de origen vegetal son algunos componentes tóxicos, tales como los inhibidores de proteasas, taninos y hemaglutininas. De ahí, la necesidad de emplear tratamientos térmicos para su cocción, que pueden afectar la disponibilidad de los aminoácidos, ya que éstos pueden interactuar con los carbohidratos que abundan en los alimentos de origen vegetal (Hernández; et al, 1984).

Las técnicas in vivo utilizan ratas machos, recién destetadas, de 21 a 23 días, a las que se les suministra una dieta preparada que contiene aproximadamente 10% de proteína. Paralelamente se utiliza una dieta libre de proteínas usada como control para estimar la excreción del nitrógeno endógeno de las ratas. Los animales se mantienen en un periodo de adaptación, determinándose la digestibilidad proteica aparente

luego de estar ingiriendo las dietas por un determinado tiempo. El alimento ingerido es monitoreado diariamente y el peso de las ratas se registra todos los días. La concentración de nitrógeno en las heces y en la orina es estimado por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990). La fórmula para calcular la digestibilidad proteínica es la siguiente:

$$D = \frac{N \text{ ingerido} - N \text{ fecal}}{N \text{ ingerido}} \times 100 \quad (7)$$

Donde el  $N \text{ fecal}$  = N fecal del test de los animales - N fecal de la dieta libre de proteínas (Rangel, et al ,2003).

Existen técnicas *in vitro* estandarizadas para determinar la digestibilidad proteica que poseen correlación con los métodos *in vivo*. Algunos se basan en el análisis de productos obtenidos después de la hidrólisis de las proteínas por enzimas digestivas (Gauthier, 1986). Primariamente Akesson y Stahmann (1964) encontraron que el sistema pepsina-pancreatina permitió obtener una razonable aproximación de la digestibilidad proteica. Buchanan y Byers (1969) describieron un sistema en el cual incluyeron papaina. Estos dos últimos métodos fueron reinvestigados por (Saunders, et al ,1973), desarrollando un método que utilizó papaina-tripsina que mostró una buena correlación con los ensayos *in vivo*. Rhinehart (1975) estudió un sistema en el cual incluía otras enzimas como pepsina-tripsina, tripsina -quimiotripsina y combinaciones con peptidasas. Este sistema no fue aceptado debido a que los procedimientos resultaron dificultosos para la aplicación en controles de rutina (Hsu, 1977). Más recientemente investigadores intentaron determinar la digestibilidad proteica *in vitro* usando una membrana de diálisis o célula. Usando este sistema la digestibilidad proteica fue calculada a través del porcentaje de nitrógeno en el dializado (Yeoung, 1991). Un método aceptado y utilizado en la industria alimenticia es la electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE. Es aplicada en el control de calidad de productos e ingredientes proteicos, estima el peso molecular de las proteínas y se utiliza en la detección de péptidos de bajo peso molecular (Yeoung, 1991).

## **1.5. Descripción de las Materias Primas Utilizadas en esta Tesis**

### **1.5.1. Maíz**

La demanda mundial de maíz esta controlada por el mercado de alimentos para animales. Sin embargo, para la industria de la alimentación humana, aparecen algunas características especiales que permiten diferenciar los distintos tipos de maíz y sus respectivas variedades. Es un grano que tiene numerosas y diversas aplicaciones, constituye una importante fuente de materia prima para producir almidones, edulcorantes, aceite, alcohol, etc.

#### **1.5.1.1. Aspectos generales de los granos**

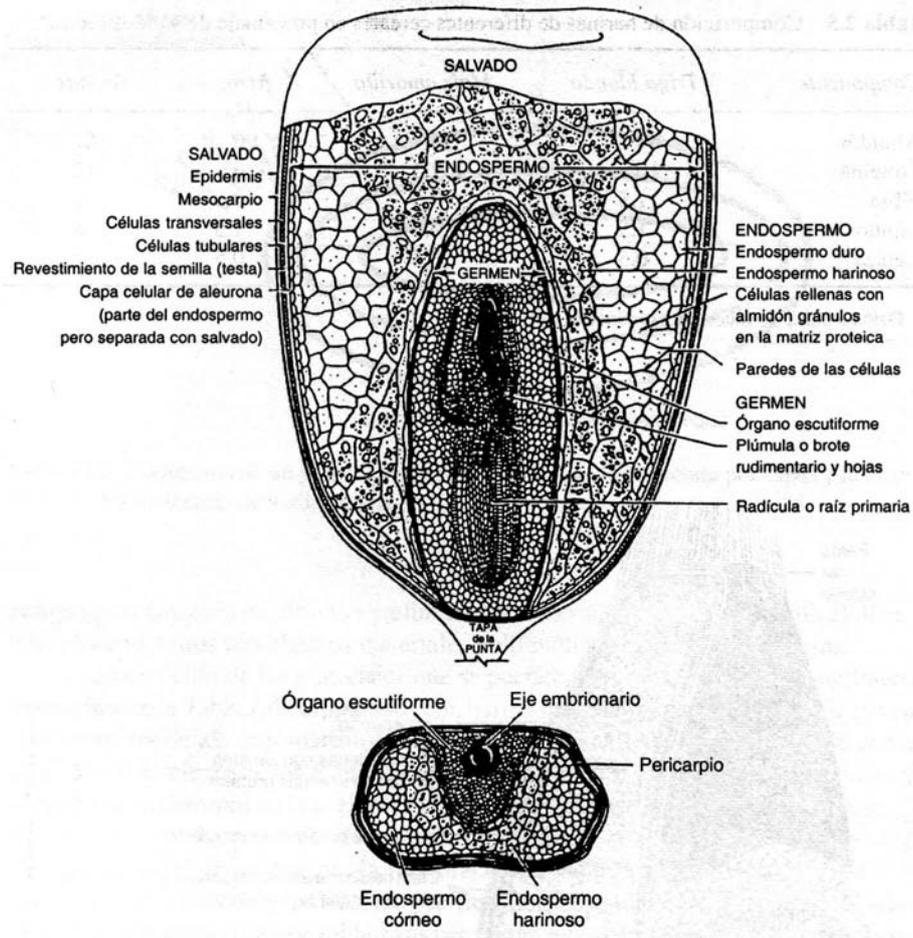
Los cereales pertenecen al grupo de las *Angiospermas* y dentro de este, a la familia de las *Gramíneas*. El maíz pertenece a la tribu *Maydeaes* y al género y especie *Zea mays* La calidad del maíz está determinada principalmente por la estructura y composición del grano, las que dependen del híbrido o variedad utilizada, así como de las prácticas de manejo, el clima, el suelo y los métodos de cosecha, secado, almacenaje y transporte (Percibaldi, 2003).

#### **1.5.1.2. Estructura y composición del grano de maíz**

La estructura anatómica de los cereales es básicamente similar, diferenciándose un cereal de otro solamente en ciertos detalles. Los granos de trigo, centeno y maíz están compuestos por una cubierta llamada pericarpio, un germen localizado en un extremo y un endospermo localizado en el centro de la semilla o grano. Los granos de avena, cebada y arroz contienen además, la envoltura del fruto o semilla denominada gluma, que constituye la cáscara.

Se destacan entre ellas: el Pericarpio que es la cubierta externa de la semilla, fruto ó grano; la Aleurona que es una capa de células que corresponde al endospermo; el Endospermo que es el sitio en donde se encuentran las reservas de la semilla cuyos componentes principales son los gránulos de almidón y las proteínas; el

Germen o Embrión donde se encuentra especialmente la materia grasa y la maquinaria biológica para la germinación y el Pedículo que es el tejido remanente por donde se conecta el grano con el marlo.



**Figura 1.4:** Corte transversal de un grano de maíz maduro mostrando la localización de los componentes principales.

La composición química promedio de estas partes principales se muestra en la Tabla 1.3. El endospermo contiene la mayor parte del almidón, el germen, los lípidos, y el pericarpio y el pedicelo están constituidos fundamentalmente por carbohidratos estructurales y no digeribles.

Componentes	%	Composición centesimal en base seca			
		Endospermo	Germen	Pericarpio	Pedicelo
Almidón	62,0	87,0	8,3	7,3	5,3
Proteína	7,8	8,0	18,4	3,7	9,1
Lípidos	3,8	0,8	33,2	1,0	3,8
Cenizas	1,2	0,3	10,5	0,8	1,6
Otros*	10,2	3,9	29,6	87,2	80,2
Agua	15,0	-	-	-	-

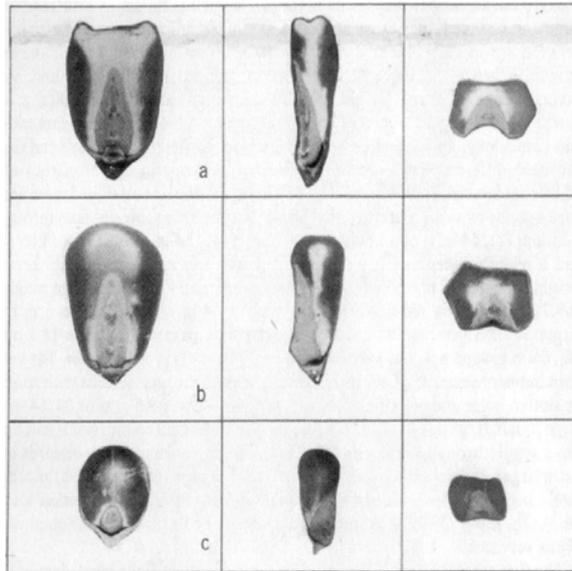
\* Por diferencia, se incluye: fibra, nitrógeno no proteico, pentosanos, ácido fítico, azúcares solubles, xantofilas.

**Tabla 1.3:** Distribución de los principales componentes del maíz. (Cheryan y Shukla, 2001).

### 1.5.1.3. Propiedades del endospermo del grano de maíz

A diferencia del trigo, cuyo endospermo posee características de dureza más o menos homogéneas, en un mismo grano de maíz se reconocen dos clases diferentes de endospermo: el córneo (duro y translúcido) y el harinoso (blando y opaco). Las proporciones de cada uno varían con el tipo de maíz y con la variedad.

La Figura 1.5 muestra la distribución de los endospermos córneo y harinoso en tres tipos de granos de maíz: Dentado denominado amarillo o harinoso, estos poseen mayor proporción de endospermo harinoso y por lo tanto presentan la menor dureza Duro (“Flint”) comúnmente denominado colorado duro y Pisingallo (“Pop”), (“Waxy”) o ceroso (muy bajo contenido de amilosa) presentando el Pisingallo la mayor proporción de endospermo córneo, estos dos últimos poseen la mayor dureza. La tecnología utilizada para mejoramiento genético ha permitido desarrollar numerosos híbridos agregando material genético del Dentado al Colorado duro, dando origen a los llamados Semidentados, de dureza intermedia. (Watson 1987b; Stroshine, et al, 1986).



**Figura 1.5:** Vistas de cortes de tres tipos de granos de maíz. Columna izquierda, sección longitudinal paralela al frente del germen; columna central, sección longitudinal perpendicular al frente del germen y columna derecha, sección transversal. a) Dentado; b) Colorado duro y c) Pisingallo. (Watson, 1987a).

Análisis químicos de ambos tipos de endospermos, mostraron que ambos contenían la misma cantidad de proteínas pero que variaban en el tipo de ellas. La diferente forma de los gránulos de almidón que pertenecen a uno y otro endospermo, podrían explicarse por el encogimiento de la proteína al perder agua durante el proceso natural de secado. En el caso del endospermo córneo, la adhesión entre la proteína y el almidón es suficientemente fuerte para arrastrar los gránulos de almidón y compactarlos. En esta etapa, los gránulos de almidón son flexibles y, como están fuertemente empaquetados, toman una forma poligonal. En el caso del endospermo harinoso, la distribución de las proteínas es diferente y la matriz es más laxa. Durante el secado, los enlaces proteína-proteína se rompen, dejando espacios de aire entre los gránulos de almidón que, por lo tanto mantienen la forma esférica. Si el maíz es

cosechado antes de que se seque, todos los gránulos serían esféricos (Hoseney, 1986).

#### **1.5.1.4. Dureza del endospermo**

La dureza del endospermo contribuye a otorgarle al maíz resistencia mecánica. Esta propiedad es deseable para mantener la integridad del grano durante los procesos de cosecha y poscosecha (Watson, 1987b; Robutti, 1995). Existen diversos parámetros para estimar la dureza endospermica, De Dios y col. (1992) adoptaron cuatro por su relevancia en la estimación de la dureza y su relativa facilidad de medición: Peso hectolítrico, Índice de flotación (IF), Dureza NIR (“Near Infrared Reflectance”) y Relación Gruesos/Finos (RG/F). Eyhérbide y col. (1996) analizaron una extensa serie de muestras de maíz de diferentes cultivares producidos en distintos ambientes, utilizando los cuatro parámetros. Los resultados permitieron clasificar las muestras como ya se dijo en tres categorías de dureza: Harinosos (Dentados), Semiduros (Semidentados) y Vítreos (Duros y Pisingallos).

La base fisicoquímica de la dureza se puede atribuir a las complejas interacciones entre ciertos componentes del grano. Un grupo serían las zeínas, que constituyen las principales proteínas de reserva del endospermo del maíz. El otro componente que tiene incidencia en la dureza del endospermo es el almidón (ver punto 1.5.1.6).

#### **1.5.1.5. Perfil de proteínas del grano de maíz**

Datos actuales indican que el contenido proteico de diferentes variedades de maíz se halla en el orden de 6-12% en base seca. Cerca del 75% de la proteína de maíz está contenida en el tejido endospermico, mientras que el resto se encuentra en el germen y el salvado (Cheryan y Shukla, 2001).

De acuerdo a su solubilidad en distintos solventes en la Tabla 1.4, pueden diferenciarse cuatro clases de proteínas: Albúminas, Globulinas, Glutelinas y Zeínas.

<b>Tipo de proteína</b>	<b>Solubilidad</b>	<b>Grano Entero</b>	<b>Endospermo</b>	<b>Germen</b>
<b>Albúminas</b>	Agua	8	4	30
<b>Globulinas</b>	Sal	9	4	30
<b>Glutelinas</b>	Álcali	40	39	25
<b>Zeínas</b>	Alcohol	39	47	5

**Tabla 1.4:** Distribución de las fracciones de proteínas en el grano de maíz (composición centesimal en base seca). (Cheryan y Shukla, 2001).

Las zeínas pertenecen a la categoría de las prolaminas y se hallan presentes mayormente en el endospermo del grano, mientras que las glutelinas están distribuidas tanto en el endospermo como en el germen. Las albúminas y las globulinas se hallan presentes fundamentalmente en el germen (Shewry, et al, 2002). Las proteínas del grano de maíz, representadas principalmente por las zeínas y glutelinas, presentan baja calidad debido a que son deficientes en AA indispensables como lisina y triptofano (Oropeza y Ortiz, 1989).

En el endospermo del grano de maíz, se han encontrado distintas clases de zeínas. Las  $\alpha$ -zeínas o zeínas-1 ( $Z_1$ ), de 19-22 kDa, son ricas en glutamina, leucina y en aminoácidos hidrofóbicos pero son pobres en AA azufrados, en tanto que las  $\beta$  y  $\gamma$ -zeínas llamadas también zeínas-2 ( $Z_2$ ), de 14 kDa y 16-27 kDa respectivamente, poseen gran cantidad de puentes disulfuro (Lending y Larkins, 1989). Algunos autores también consideran la presencia de una cuarta zeína,  $\delta$ -zeína cuyo peso molecular es de 10 kDa (Pratt, et al, 1995).

#### **1.5.1.6. Almidón**

En el maíz, el almidón conforma el 72-75% del grano (Watson, 1987a). En los diferentes tipos de maíz, el almidón difiere comúnmente respecto a sus propiedades morfológicas, reológicas, funcionales y térmicas (Sandhu, et al, 2004).

Por otro lado, en la industria alimentaría, el almidón contribuye con características de viscosidad, consistencia y formación de geles (Sing, et al, 2003; Sandhu; et al, 2004) y es considerado como el mayor responsable de las transformaciones producidas durante los procesos de cocción del maíz (Buleón, et al, 1998).

#### **1.5.1.7. Principales productos del maíz**

La mayor parte de la producción de maíz es utilizada para elaborar alimentos balanceados, para este fin el grano es molido íntegramente. Esta molienda no requiere instalaciones especiales, ya que se trata de desintegrar los granos sin clasificar ni separar las partes de los mismos (normalmente se utilizan molinos a martillos).

La utilización del maíz en la alimentación humana está destinada en su mayor parte a la producción de almidón (molienda húmeda) y más del 70 % de éste es convertido en jarabes (de glucosa y de fructosa). La otra forma de utilización del maíz en la alimentación humana es a través de la molienda seca, siendo ésta muy variada y dependiente de varios factores, entre ellos los culturales. Para algunos productos tales como las “tortillas” se utiliza el grano entero molido (incluyendo el germen) previamente cocido en agua de cal, proceso llamado “nixtamalización”, en el que se utilizan molinos de muelas o discos, transformando al grano hidratado en una masa. Para otros como la “polenta” y las “arepas”, se utiliza la fracción del endospermo proveniente de la molienda del grano, previamente desgerminado y descascarado. Para este caso se requieren instalaciones especiales, las cuales integran el diagrama de molienda seca. La optimización de este diagrama permite obtener sémolas y harinas con bajo contenido de materia grasa, lo cual es uno de los requerimientos para

la utilización en diversos productos tales como: “corn flakes”, expandidos, polenta, “grits” para cervecería, etc. Estas sémolas y harinas son producidas por reducción (en molinos de rolos), principalmente de trozos o fragmentos del endospermo córneo, que surgen luego de las etapas de desgerminación y descascarado, cuyos tamaños de partículas están comprendidos entre 3 mm y 200 micrones.

En cuanto a la producción de “snacks” expandidos, comúnmente se prefieren maíces duros debidos tanto a sus propiedades durante la molienda seca, como por la mejor textura alcanzada, en comparación con maíz dentado (de endospermo más blando) (González, et al, 2004; Robutti, et al, 2002).

<b>Minerales</b>	<b>Contenido en BS</b>
Calcio	0,03 %
Fósforo	0,29 %
Magnesio	0,14 %
Potasio	0,37 %
Sodio	0,03 %
Cobre	4,0 ppm
Manganeso	5,0 ppm
Zinc	14,0 ppm

**Tabla 1.5:** Composición promedio de minerales del grano de maíz. (Watson ,1987)

## **1.5.2. VIGNA UNGICULATA**

### **1.5.2.1. Breve Descripción de las leguminosas**

El nombre de la familia de las leguminosas, *leguminosae*, se deriva de la palabra “legumbre” que es el nombre del tipo de fruto (vaina) característico de las plantas de esta familia (Sherman, 1991). Una legumbre es un fruto monocarpelar, que contiene una sola hilera de semillas y que hace su dehiscencia a lo largo de dos suturas o costillas. Las leguminosas son dicotiledóneas (Hughe, et al, 1999).

Las leguminosas se destaca por ser la segunda fuente importante para la alimentación humana y animal, después de los cereales, debido a su alto contenido proteico, el cual varía entre 17-40%, con una alta concentración de hidratos de carbono (Hughe, et al, 1999), pero su contenido de antinutrientes interfieren negativamente en la digestión y absorción de proteína. (Granados y Lara, 1989).

Las leguminosas se emplean como materia prima para la obtención de fracciones de proteínas y de almidón mediante técnicas apropiadas para luego ser utilizada en la industria alimentaria. Se han realizado diversas investigaciones en leguminosas que se han destacado por su buena adaptación a las condiciones agronómicas, tal es el caso de *Phaseolus lunatus*, *Canavalia ensiformis* y *Vigna unguiculata* (Broughton, et al, 2003).

### **1.5.2.2. Características de la *Vigna unguiculata***

La altura promedio de la planta es de 60-90 cm, con un espaciamiento de 15-22 cm., con la necesidad de la exposición total del sol. Los frutos tienen un tiempo de madurez de 61 a 70 días, con un color floral de azul-violeta a violeta-lavanda. Para cosechar las semillas se espera hasta que las vainas estén secas (95%) En esta etapa las vainas se abren fácilmente al presionarlas con las manos. La limpieza de los granos se realiza mediante venteo (natural o usando el ventilador de una pulverizadora a motor), eliminando los materiales indeseables que están contaminando el grano (Castañeda, 2000).

La *Vigna unguiculata* (VU), que es consumida por las poblaciones pobres de África Oriental y del Noreste de Brasil (Rangel , et al, 2003), así como en el sureste Mexicano.

Reconociendo este potencial la Universidad de Michigan (USA) y la Fundación Kellogg patrocinaron una reunión de expertos de África Oriental, África Occidental y Latinoamérica para analizar y compartir experiencias con fríjol común y *Vigna unguiculata*, así como planear las acciones a realizar en el marco del programa de colaboración 2002-2007 (AID, 2000). La *Vigna unguiculata* (L.) Walp es una especie de cultivo limitado actualmente, aunque apreciada en algunas zonas de España y Portugal, donde recibe nombres como “caupí” (derivado del "cowpea" en inglés), judía carilla, judía de vaca y fríjol de fraile. Esta es considerada de origen africano y traído a América en el siglo XVII, es importante en algunos sistemas campesinos de áreas tropicales secas y subhúmedas del país, por su tolerancia a condiciones agrícolas adversas de sequía, plagas y enfermedades, lo cual constituye una seguridad alimentaría en años malos, secos o muy lluviosos. En el sureste de México, la *Vigna* esta constituida en su mayoría por variedades de grano color café rojizas y otras con vainas, color “beige” o negro, llamados x’pelon o x’peron en lengua maya. La leguminosa *Vigna unguiculata* es conocida regionalmente como X pelón negro, la cual presenta buenos rendimientos agrícolas en los suelos de la Península de Yucatán. El fríjol es originario de la cultura antigua de África y Asia. Su cultivo se ha extendido por todo el mundo utilizándose en la alimentación humana y animal como fuente de proteína. Tiene las características de ser una planta tolerante a la sequía, a la baja fertilidad de los suelos y a las altas temperaturas (Santieteban, et al, 2001). En México la siembra se realiza entre septiembre a diciembre de acuerdo a las condiciones de humedad del suelo y si se dispone de riego o no (Saenz, 1995).

La cosecha debe efectuarse de 2 a 3 cortes, ya sea por consumo en verde o en grano en seco. En el primer caso se recomienda cosechar cuando el grano esta bien formado, y en el segundo caso cuando las vainas están completamente secas.



(Rivera, 1995)

**Información Taxonómica:**

Familia: Fabaceae

Genero: Vigna (Dominico Vigna)

Especie: Unguiculata

Cultivar: Whippoorwill

**1.5.2.3. Composición Química**

La composición química del grano de x'pelon en base seca presenta un contenido de humedad de 6.20-6.46%, lípidos 6.20-6.50%, fibra cruda 1.7-4.5 %, carbohidratos 55.0-65.7 % y proteína cruda 20.5-39.7%. Al igual que en otras leguminosas, sus proteínas son deficientes en contenido de aminoácidos azufrados reduciendo de esta forma su calidad nutricional (Tecson y Adachi, 2001; Onwuliri y Obu, 2002), aunque la lisina, fenilalanina, leucina, isoleucina y valina se presentan en un nivel adecuado según los requerimientos de la FAO (Hussain y Basahy, 1998). Sin embargo, como otras leguminosas contienen factores no nutricionales tales como los inhibidores de tripsina, lectinas, etc., que reducen su digestibilidad (Brenes y Brenes, 1993; Freitas, et al, 2004), no obstante éstos factores están presentes en menor cantidad respecto de otras leguminosas (Rangel , et al, 2003). Otro factor presente en las leguminosas con efectos negativos desde el punto de vista organoléptico es la enzima lipooxigenasa que participa en la oxidación de ácidos grasos (Fehr, 2000). Para disminuir los efectos de estos factores se debe someter a los granos a un procesamiento térmico adecuado, denominado inactivación que se ha confirmado una mejora en el valor nutritivo de estas proteínas vegetales (Brenes y Brenes, 1993). Esta inactivación puede ser efectuada por medio de la extrusión.

<b>Minerales</b>	<b>Concentración (mg/100g)</b>
Calcio	15,0-24,0
Hierro	22,5-16,0
Zinc	8,8-5,6
Potasio	1319,0-1028,0
Sodio	56,1-42,1
Cobre	0,7-0,3
Manganeso	12,4-8,4
Magnesio	156,0-231,0

**Tabla 1.6:** Composición de minerales de algunas variedades de *Vigna unguiculata* cultivadas en México. (Duke, 1981).

## 2. OBJETIVOS

La presente tesis tuvo como objetivo general:

- ✓ Aumentar la variedad de productos aptos para alimentación institucional.

Los objetivos particulares fueron:

- ✓ Analizar los efectos de las variables de extrusión sobre las características fisicoquímicas y texturales del producto expandido y sobre la viscosidad de las suspensiones de las harinas.
- ✓ Mejorar la calidad nutricional de productos tipo “snack” y de harinas precocidas utilizando una mezcla de maíz-leguminosa
- ✓ Evaluar el aporte potencial de minerales estimando la biodisponibilidad de los mismos.

### **3-MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materias primas.**

##### **3.1.1. Molienda de los granos.**

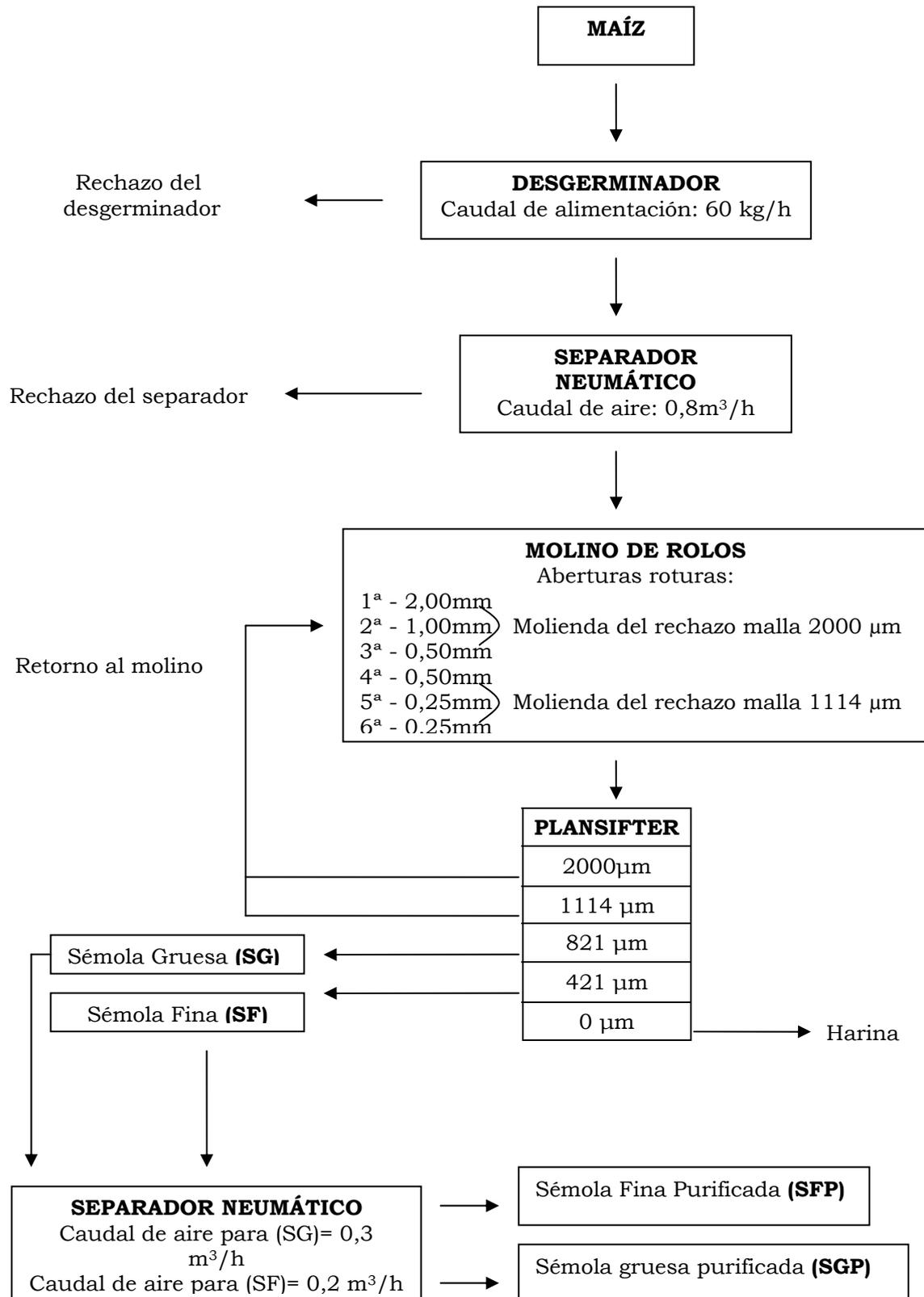
###### **3.1.1. a Molienda de los granos de maíz:**

Para la obtención de sémola de maíz se siguió un diagrama de molienda seca que se representa en la Figura 3.1, partiendo de un maíz colorado Dekalb 764 (Dk). Dicho diagrama permitió obtener sémolas con un nivel de materia grasa menor al 1% adecuado para el proceso de extrusión (Robutti, et al, 2002). La granulometría final de estas sémolas estuvo comprendida entre 420 y 1190  $\mu\text{m}$ .

La dureza del endospermo del maíz seleccionado (Dk), fue determinada en el INTA de Pergamino, utilizando la metodología de (Eyhérabide, et al, 1996). El valor obtenido por el método de molienda, el cual corresponde a la relación Gruesos/Finos fue 4,6. Este valor cae en el rango correspondiente al de un maíz semidentado.

###### **3.1.1. b Molienda de los granos de *Vigna unguiculata* (VU):**

En un trabajo previo (Fritz, et al, 2005). Se pudo demostrar que la utilización de los granos de VU con lipoxigenasa inactivada (por tratamiento con vapor fluyente en autoclave por 10 min) permitía atenuar significativamente el “sabor a legumbre” característico. Tales granos, fueron molidos en etapas, utilizando un molino de rolos de manera de evitar una excesiva proporción de partículas finas, pero suficiente para separar la cáscara por aspiración con aire. La granulometría de la fracción seleccionada para la extrusión estuvo comprendida entre 420-250  $\mu\text{m}$ .



**Figura 3.1:** Diagrama de molienda para la obtención de sémolas de maíces utilizados en este trabajo.

### 3.2 Composición química de las materias primas.

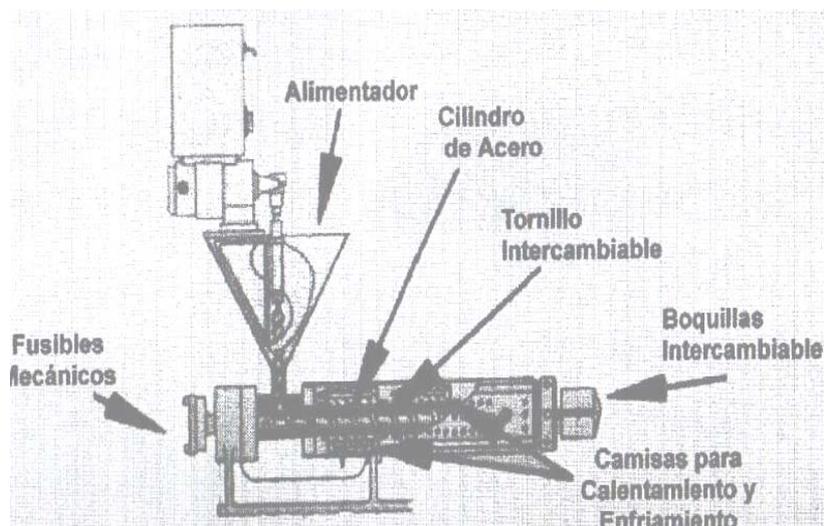
Las determinaciones de humedad, materia grasa, proteínas, cenizas, se realizaron de acuerdo a las técnicas establecidas por la (AACC ,1994). Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado y se informan los valores promedios. Para estas determinaciones, las sémolas obtenidas en los puntos 3.1, se molieron utilizando un molino Ciclotec con malla de 1 mm.

### 3.3. Extrusión.

#### 3.3.1. Características del extrusor empleado.

La Figura 3.2 muestra el esquema del extrusor Brabender (Alemania) utilizado en este trabajo. Es un extrusor monotornillo con relación largo-diámetro igual a 20. Está equipado con un sistema dinamométrico registrador del momento torsor (torque) ejercido sobre el eje de rotación y tiene la posibilidad de variar la velocidad de rotación del tornillo (rpm), de manera continua. Las temperaturas pueden medirse a través de termocuplas ubicadas en el cañón o cilindro (en la zona entre la alimentación y la punta del tornillo) y en el punto intermedio del cabezal portador de la boquilla. Las termocuplas miden la temperatura de la masa de acero con que están construidas estas partes del equipo. Pero también, en la zona de la boquilla se mide la temperatura del material que fluye a través de ella, por medio de otra termocupla que está directamente en contacto con el fluido.

**Figura 3.2:** Esquema del extrusor Brabender (González y col., 2002).



### **3.3.2. Preparación de las muestras extrudidas.**

#### **3.3.2. a Preparación de la mezcla a extrudir**

En ensayos previos se determinó que un 15% de reemplazo de la sémola de maíz con sémola de *Vigna unguiculata* era adecuado, ya que mayores niveles de reemplazo provocaban una disminución significativa de la expansión y además con 15% de reemplazo, no se observaban alteraciones en los aspectos sensoriales respecto al expandido de maíz. Por lo tanto se fijó esta mezcla (85% de sémola de maíz + 15% de sémola de VU) para la preparación de las muestras extrudidas.

#### **3.3.2. b Diseño experimental**

Para analizar los efectos de las variables de extrusión sobre las características fisicoquímicas y texturales del producto expandido y sobre la viscosidad de las suspensiones de sus harinas, se utilizó la metodología de superficie de respuesta, tomando como variables independientes (o factores) a la humedad de la mezcla o humedad de alimentación (%H: 15,0-17,0-19,0) y la temperatura de extrusión (T: 150-165-180°C), las que se variaron de acuerdo a un diseño experimental de tipo  $3^2$  con tres puntos centrales, resultando 11 muestras con un triplicado del punto central.

#### **3.3.2. c Ensayos de extrusión**

En todos los ensayos, la mezcla se preparó y acondicionó 2 h antes del proceso de extrusión, llevándola al nivel de humedad establecido en el diseño experimental, para lo cual se utilizó un mezclador planetario Brabender P 600 (Alemania) a una velocidad de rotación de 60 rpm, agregando el contenido de agua necesaria y agitando por espacio de un 1 min. Luego la mezcla acondicionada fue dispuesta en bolsa de plástico debidamente cerrada hasta su uso.

Las condiciones de extrusión para todos los casos fueron las siguientes: tornillo con relación de compresión 4:1; velocidad de rotación 150 rpm; boquilla cilíndrica de 3 mm de diámetro y 20 mm de largo. La alimentación del extrusor se realizó de manera

de llenar totalmente los canales del tornillo en la sección de alimentación (“full-capacity”). Las condiciones de temperatura de extrusión y humedad de alimentación fueron los descriptos en el punto anterior.

En todos los casos, las muestras extrudidas se cortaron en trozos de aproximadamente 5 cm y se llevaron a 6% de humedad en estufa a 70 °C. Posteriormente una alícuota de 100 g se guardó herméticamente en bolsas de plástico para el posterior análisis sensorial, la determinación de expansión, densidad y resistencia mecánica. El resto se separó para ser utilizado en los ensayos de evaluación de la solubilidad en agua y las características de las dispersiones de harinas precocidas.

### 3.4 Evaluación de las muestras

#### 3.4.1 Respuestas.

Para cada una de las respuestas evaluadas ( $Y_i$ ), se determinaron los coeficientes de regresión del polinomio de segundo grado y conjuntamente se realizó el análisis de la variancia (ANOVA). Las respuestas quedaron expresadas en el modelo de regresión de la siguiente forma:

$$Y_i = a_0 + a_1T + a_2H + a_3T^2 + a_4HT + a_5H^2 \quad (7)$$

Las respuestas seleccionadas fueron: Consumo específico de energía mecánica CEEM ( $J g^{-1}$ ), Expansión, Densidad ( $g dm^{-3}$ ), Dureza sensorial y mecánica, Solubilidad en agua (%) y Viscosidad de las dispersiones de las harinas a 60 °C y a  $100 s^{-1}$  de gradiente de velocidad (Pa s).

En los ensayos se midió el caudal másico de sólido seco  $Q_s$  ( $g min^{-1}$ ) y la longitud del producto extrudido al cabo de un min ( $cm min^{-1}$ ). El caudal fue posteriormente referido a la humedad de alimentación. También se registró el torque (UB) ejercido por el material en su paso a través del extrusor. Estos datos fueron

tomados luego de que el proceso alcanzó el estado estacionario, momento en el cual el caudal másico de salida y el torque se mantienen constantes.

### 3.4.2. Evaluación de los parámetros de extrusión y de las características del expandido sin moler.

**a) Caudal másico ( $Q_s$ ):** Se determinó pesando la muestra que se extrude en 1 min y refiriéndola a la humedad de alimentación.

**b) Consumo específico de energía mecánica (CEEM):** Se calcula a partir del torque que se genera en el tornillo extrusor utilizando la siguiente fórmula:

$$CEEM = \frac{KTN}{Q_s} \quad (8)$$

donde  $K$ : constante =  $61,3 \cdot 10^{-3} \text{ J g}^{-1}$ ;  $T$ : torque en Unidades Brabender (lectura de registro gráfico);  $N$ : rpm del tornillo extrusor ( $\text{min}^{-1}$ ) y  $Q_s$ : Caudal másico referido a la humedad de alimentación.

**c) Expansión:** En todos los casos se midió el diámetro (mm) de los trozos de muestras extrudidas con un calibre manual Vernier (Stronger) en 10 zonas distintas escogidas al azar. La expansión se calculó como la relación entre el diámetro medio del producto y el diámetro de la boquilla según:

$$E = \frac{D}{d} \quad (9)$$

Donde  $D$ : es el diámetro promedio del material extrudido y  $d$ : es el diámetro de la boquilla del extrusor.

**d) Densidad (D):** Es el peso de un  $1 \text{ cm}^3$  de muestra extrudida. Da una idea de la "porosidad" de la muestra. Por lo tanto, a mayor densidad menor será la porosidad del producto. Esta magnitud está inversamente relacionada con el grado de cocción. La densidad de las muestras extrudidas se determinó separando 10 trozos de muestra de

aproximadamente 5 cm de longitud c/uno. Cada trozo se pesó y se expresó dicho peso en base seca. La D se calculó con la siguiente fórmula:

$$D = \text{peso [mg]} / (\pi d^2 / 4) L \quad (10)$$

donde  $L$  es su Longitud en cm.

**e) Evaluación sensorial:** La evaluación sensorial de la dureza fue realizada por medio de un panel entrenado, utilizando una escala de dureza de 1 a 9, cuyos extremos fueron establecidos con las muestras extrudidas, otorgando a la más dura el valor 9 y a la menos dura el valor 1. En todos los casos se solicitó al panel que realice comentarios acerca de la intensidad en el sabor percibido en las muestras en una escala de 0 (maíz) a 3 (sabor intenso a frijol).

**f) Dureza mecánica:** fue evaluada determinado la resistencia a la compresión del producto, utilizando una maquina universal Instron modelo 4411. Probetas de 8 mm de largo fueron comprimidas a una velocidad de 10 mm/min, usando una celda de carga de 500 kgf, de acuerdo con (Park, et al, 1993). Esta determinación fue realizada por el Dr Luis Chel de la Facultad de Ing. Química de la Universidad Autónoma de Yucatán (Mérida – México).

### 3.4.3. Evaluación de las harinas precocidas

**a) Obtención de harinas:** Aproximadamente 150 g de las muestras extrudidas correspondientes a cada condición experimental, fueron molidas en un molino de martillos Retsch-Muhle (Alemania) utilizando primero una malla de 3 mm para lograr una primera reducción y luego una malla de 0,25 mm para una reducción más fina. El proceso de molienda se realizó hasta que el 98% pasara por un tamiz de 420  $\mu\text{m}$ .

**b) Solubilidad en agua:** Son los gramos de sólidos solubles por gramos de sólidos totales. Se utilizó la técnica descrita por (Anderson, et al, 1969) con las modificaciones realizadas por (González, et al, 1986). Se suspendieron 1,25 g de

muestra en 25 ml de agua en tubos de centrifuga a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min; se centrifugó a 2000xg por espacio de 30 min, obteniéndose un sobrenadante y un residuo o gel insoluble. En el sobrenadante, se determinó el contenido de sólidos solubles por evaporación en estufa a 105 °C y se calculó la solubilidad como el porcentaje de este peso respecto al de la muestra seca.

**c) Viscosidad de la dispersión de harina:** Para las medidas de la viscosidad, se prepararon dispersiones de harinas precocidas, al 10,0-13,0-15,0 % en peso, base seca (%P/P<sub>bs</sub>). La viscosidad fue evaluada con un viscosímetro HAAKE Rotovisco modelo RV3 (Alemania) utilizando un cabezal MVI-50 para las dispersiones al 10,0% y un cabezal MVI-500 para las dispersiones al 13,0 y 15,0 %P/P<sub>bs</sub>. La preparación de la dispersión se realizó de la siguiente manera: la harina se colocó en frasco con tapa a rosca, se le adicionó el peso correspondiente de agua a temperatura ambiente, agitando con la precaución de no generar grumos. Luego, los frascos cerrados fueron agitados en un baño termostático Vicking modelo Dubnoff (Argentina) a una temperatura de 70 °C por 10 min (tiempo necesario para que la temperatura de la dispersión alcance los 63-65 °C). A continuación, se vertió la suspensión en el vaso del viscosímetro. El reograma se realizó a 60 °C, desde una velocidad de 0 hasta 150 rpm, con una aceleración de 50 rpm min<sup>-1</sup>. Los valores de esfuerzo de corte ( $\tau$ ) en [Pa] y de gradiente de velocidad ( $D$ ) en [s<sup>-1</sup>], se calcularon multiplicando los valores de  $S$  y de rpm, por las respectivas constantes que suministra el instrumento. De esta manera, se construyeron los reogramas (curva  $\tau$  vs  $D$ ) para las harinas precocidas obtenidas en las condiciones del diseño experimental. Los reogramas para cada muestra se obtuvieron por duplicado y se calcularon los valores medios de esfuerzos de corte ( $\tau$ , en Pa) para distintos valores de gradiente de velocidad ( $D$ , en s<sup>-1</sup>). Con tales valores se obtuvieron por regresión los parámetros de la función de potencia:  $\tau = k D^n$ , la cual se utilizó para calcular la viscosidad a un gradiente de velocidad seleccionado. Además, y a los efectos de realizar una comparación se determinaron los reogramas

correspondientes a dispersiones de tres muestras de harina de maíz, extrudidas a 165 °C y a los tres niveles de humedad (15 – 17 - 19%) y también se obtuvieron los reogramas de las dispersiones obtenidas con una sopa crema comercial de arveja, las cuales se prepararon de acuerdo a lo sugerido por el fabricante y en las concentraciones de 5,9-7,6-10,4 %P/P<sub>bs</sub>, destacándose que la concentración sugerida para el consumidor correspondía al 5,9 %P/P<sub>bs</sub>.

### **3.5. Evaluación de las características nutricionales**

#### **3.5.1. Determinación de digestibilidad *in vitro* de proteínas**

La determinación de la digestibilidad proteica se llevó a cabo de acuerdo al método *in vitro* de (Genovese y Lajolo; 1996), con ligeras modificaciones.

Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra (maiz/frijol) que se dispersaron en buffer de pH 2 (KCl-HCl), obteniendo una concentración de 13,3 % (aproximadamente 10 mg/ml de buffer). Se colocó en baño termostático a 37 °C y se adicionó 1 ml de pepsina (Sigma) 0,25 % de manera de alcanzar una proporción de 1/66,7 (enzima/sustrato). Se incubó durante 2 horas. Luego se adicionó buffer fosfato de sodio 0.2 M a pH 8 (1:1 v/v) para elevar el pH a 7,5-7,7, e interrumpir la acción de la pepsina. Se equilibró a 37 °C y se adicionó 1 ml de pancreatina (al 0.6%). Se incubó durante 4 horas a la misma temperatura con agitación. Se tomaron muestras a intervalos de 1 hora y la digestión se interrumpió con SDS 2% y calentando durante 10 min a 90 °C. Luego se centrifugó a 2.500 g x 10 minutos y se determinó el contenido de grupos aminos libres en el sobrenadante. Se realizaron dos blancos simultáneamente, uno conteniendo sólo las enzimas y otro solo las muestras. El grado de hidrólisis se determinó basándose en la medición de grupos aminos liberados utilizando la técnica del OPA (Nielsen, et al, 2001).

### 3.5.1. a Determinación del contenido aminos libres

Se siguió la Técnica de (Nielsen, et al ,2001).

#### Preparación del reactivo de color:

Se disolvió en aproximadamente 75 ml de agua, 3,81g  $\text{Na}_2 \text{B}_4\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y 100 mg de SDS. Aparte se disolvieron 80 mg de OPA (orto ftaldialdehido) en 2 ml de etanol. Se mezclaron las soluciones anteriores, se agregó 88 mg de DTT (Ditiotreitol) y se enrasó en matraz de 100 ml con agua destilada.

El Estándar se preparó disolviendo 25 mg de L-serina en 25 mg de agua destilada. Se construyó la curva de calibrado (tabla 3.2) utilizando una dilución de 1/10 de la solución anterior.

	H2O ( $\mu\text{l}$ )	TESTIGO ( $\mu\text{l}$ )
<u>BLANCO</u>	200	-
<b>T1</b>	150	50
<b>T2</b>	100	100
<b>T3</b>	50	150
<b>T4</b>	-	200

**Tabla 3.2:** Curva de calibrado para grupos aminos libres

#### Método:

A 1,5 ml de reactivo color se agregó 200  $\mu\text{l}$  de estándar (testigo) o 200  $\mu\text{l}$  de una dilución apropiada de la muestra o 200  $\mu\text{l}$  de agua (blanco). Se agitó durante 5 segundos y se leyó a 340 nm luego de 2 minutos. Los aminos libres se calcularon a partir de la curva de calibrado: absorbancia vs. mEq de serina.

### 3.5.2. Dializabilidad de Fe y Zn.

La dializabilidad del hierro (DFe%) y del zinc (DZn%) fue estimada en las muestras molidas, utilizando la técnica de dializabilidad modificada, que mide el porcentaje de mineral dializado luego de una digestión que simula los procesos gastrointestinales (primer etapa con pepsina y una segunda etapa con bilis-pancreatina), utilizando bolsas de diálisis (Wolfgor, 2002).

#### Método:

Alícuotas de 25 gr de muestras homogeneizadas, se ajustaron a pH 2 con HCL 3.914 N y luego se agregó 0.8 ml de solución de pepsina al 16% en HCL 0.1 N. Las muestras se incubaron durante 2 horas a 37°C en baño de agua con agitación. Posteriormente se agregaron a las bolsas de diálisis conteniendo 20 ml de buffer PIPES 0.15M. El pH del buffer usado fue calculado para obtener un dializado con pH  $6.5 \pm 0.2$  al final de la diálisis.

Para calcular el pH del buffer se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$[H^+] = K_a \times C_a / C_b \quad (11)$$

donde:  $C_a$  = concentración o mEq del ácido ;  $C_b$  = concentración o mEq de la base ; y  $K_a$  = constante de acidez

Considerando que 20 mL de buffer PIPES 0.15 M PIPES buffer contribuyó con 3 mEq, y sustituyendo  $C_a$  y  $C_b$  resultó:

$$\frac{[H^+]}{K_a} = \frac{\text{Total mEq} + X}{(3 - \text{Total mEq}) - X} \quad (12)$$

Donde mEq totales = mEq HCL necesarios para ajustar a pH 2 la muestra + 0.048 mEq (adicionados con la solución de pepsina) + mEq de ácidos generados por la hidrólisis (tituando con NaOH 0.1 N hasta pH 6.5), y  $X$  = mEq de ácido que debería ser provisto por el buffer.

Despejando el valor de  $X$  de (12):

$$X = [f \times 3 / (f + 1)] - \text{mEq totales}$$

Donde  $f = [10^{(\text{PIPES } pK_a - \text{pH a alcanzar})}] = 10^{(6.8 - 6.5)} = 1.995$

Remplazando X en (3), se obtiene el pH del buffer PIPES 0.15 M

$$pH = -\log [K_a \cdot X / (3 - X)] \quad (13)$$

Luego se agregaron 3.75 ml de una solución de bilis 2.5% y pancreatina 0.4% en Bicarbonato de sodio 0.1 N, continuando la digestión durante 2 horas a 37°C. Los dializados finalmente se pesaron.

#### Contenido de minerales:

Las muestras fueron molidas y mineralizadas por vía seca y el contenido de minerales se determinó por espectroscopia de absorción atómica.

### **3.6 Análisis estadístico de los datos y herramientas gráficas.**

El ANOVA correspondiente a cada tipo de ensayo, se realizó utilizando el programa STATGRAPHICS Plus 3.0. En todos los casos, se aplicó el test estadístico de comparación múltiple LSD para determinar diferencias significativas entre las medias de cada tratamiento ( $P < 0,05$ ). Con el mismo programa se obtuvieron las gráficas de superficies de respuesta.

Otros análisis de regresión simple y algunas representaciones gráficas se realizaron por medio de la planilla de cálculo de Microsoft EXCEL (Office XP).

## 4- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Composición.

La Tabla 4.1 muestra la composición química centesimal en base seca de las sémolas de maíz y *Vigna unguiculata* (VU) empleadas en este trabajo. Los valores de humedad de las sémolas de maíz y de VU fueron 12.30% (colorado) y 12.51% respectivamente.

	Maíz Dk	VU	Mezcla (85/15)
Proteínas (N x 6,25)	7,0± 0,08	29,0± 0,20	10,4± 0,25
Materia Grasa	1,05± 0,1	1,40± 0,05	1,10± 0,1
Cenizas	0.65 ± 0,06	4,50± 0,08	1,03± 0,1

**Tabla 4.1:** Composición centesimal (en base seca) de las materias primas empleadas.

Se puede observar que la composición de la mezcla se corresponde a lo esperado. Es importante destacar la ventaja de la adición del frijol, ya que, de un contenido de 7% en el maíz se pasa a un valor de 10,4% en la mezcla. Es decir se logra un 47% de aumento con solo 15% de reemplazo. Un mayor incremento se podría lograr aumentando la proporción del frijol, pero en este caso aparecerían las restricciones sensoriales, que provocarían una disminución en la aceptabilidad del producto. No obstante, haber calculado el contenido proteico como proteína bruta, se debe destacar que el factor de conversión de nitrógeno a proteína correspondiente al maíz se encuentra en el orden de 6,25 y aunque no conocemos el factor correspondiente al frijol, se puede considerar que el valor calculado como proteína bruta es muy cercano al de la proteína verdadera, ya que el % de reemplazo del maíz no es elevado.

#### **4.2. Efecto de las variables de extrusión sobre las características de textura y expansión.**

La Tabla 4-2 (Pág. 63) muestra los valores de las respuestas para las distintas condiciones de extrusión de acuerdo al diseño experimental llevadas a cabo con el maíz Dk y el frijol (*Vigna unguiculata* con lipoxigenasa inactivada), incluyendo también los valores CEEM y expansión, correspondientes a las muestras de maíz DK extrudidas a 165 °C y a los tres niveles de humedad utilizados en el diseño experimental.

Se puede observar que el CEEM disminuye tanto con el aumento de la temperatura como el de la humedad, lo cual es coherente con lo observado en otros trabajos (González, et al ,2002) y están directamente relacionados con la fricción interna del material durante la extrusión, la cual disminuye con el aumento tanto de %H como de T. Para la extrusión de harina de maíz se ha observado que el CEEM es un buen indicador del grado de cocción (GC), existiendo una relación directa entre ambos.

Con respecto a la expansión, se puede destacar que el mayor valor se obtiene a 150°C/15%, y tal como ocurre con el CEEM, disminuye con el aumento tanto de T como de %H. Este efecto se atribuye al hecho que a los menores valores de H y de T, la componente elástica del fluido o “melt”, es mayor que para los valores mas elevados de esas variables. También se observa que tanto los valores de caudal, torque y CEEM como los de expansión correspondientes al maíz son mayores que los de las mezclas maíz/frijol. Esto esta directamente relacionado a la mayor fricción y al mayor caudal que presentan las muestras de maíz.

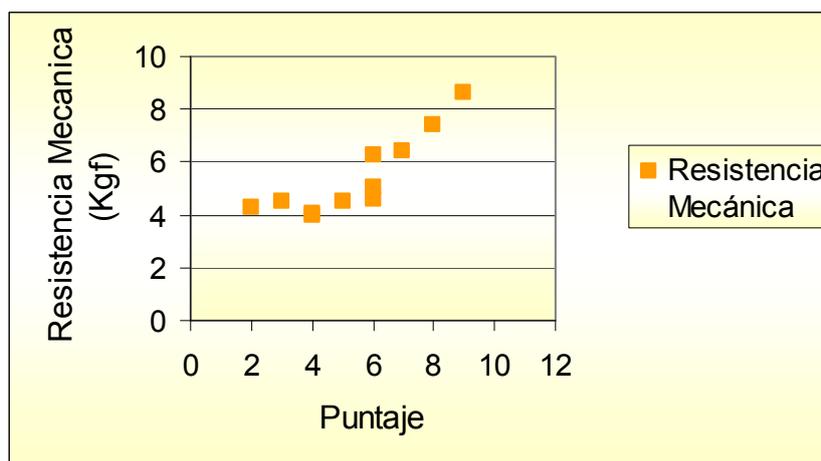
Para el caso de la densidad y consecuentemente para las otras dos características directamente relacionadas (resistencia mecánica y dureza sensorial, Ver figuras 4.1 y 4.2), se debe destacar que existe una relación inversa con el grado de cocción (González, et al, 2003). Para el rango de valores de T y H utilizados para el diseño experimental, se verifica que tanto con el aumento de T como con la

disminución de H, el grado de cocción aumenta. Consecuentemente estas tres propiedades o respuestas disminuyen al aumentar el grado de cocción.

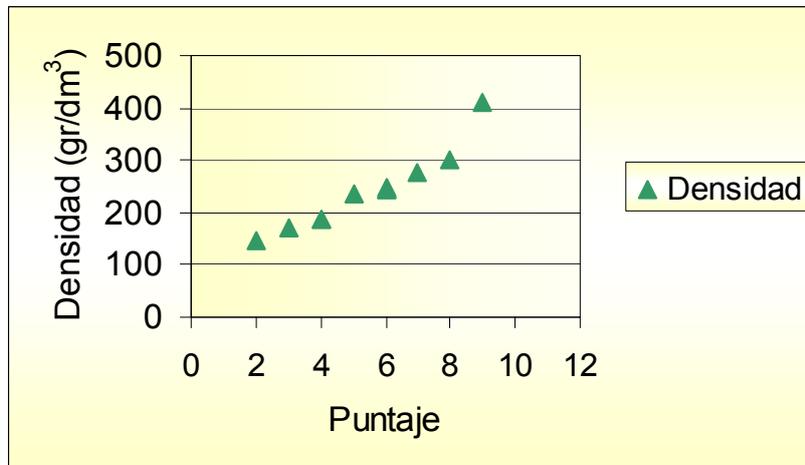
Estos comentarios quedan demostrados claramente en la figura 4.3. En la misma se observa cómo disminuye la densidad con el aumento de T y con la disminución de H, y además la relación inversa con el CEEM, diferenciándose esta última con el nivel de T.

Es interesante destacar que la disminución de la densidad con el aumento del grado de cocción, coincide con la disminución de la expansión. Esto se explica teniendo en cuenta que al aumentar el grado de cocción (GC), se obtiene una estructura con paredes de poros más delgadas, resultando un producto, menos expandido, menos denso, menos duro y menos resistente.

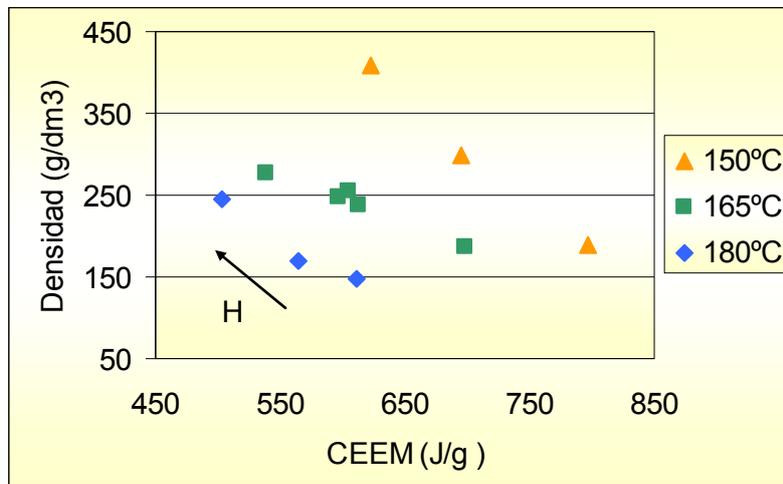
Estos resultados confirman los obtenidos en trabajos previos, utilizando sémolas de maíz (González, et al, 2002; González, et al, 2004) y demuestran que tanto el CEEM como la densidad del producto expandido son buenos indicadores del grado de cocción.



**Figura 4.1:** Relación entre los valores del dureza sensorial (puntaje) y de la Resistencia Mecánica, correspondientes a las muestras de mezcla DK-FI extrudidas



**Figura 4.2:** Relación entre los valores del dureza sensorial (puntaje) y de la Densidad correspondientes a las muestras de mezcla DK-FI extrudida.



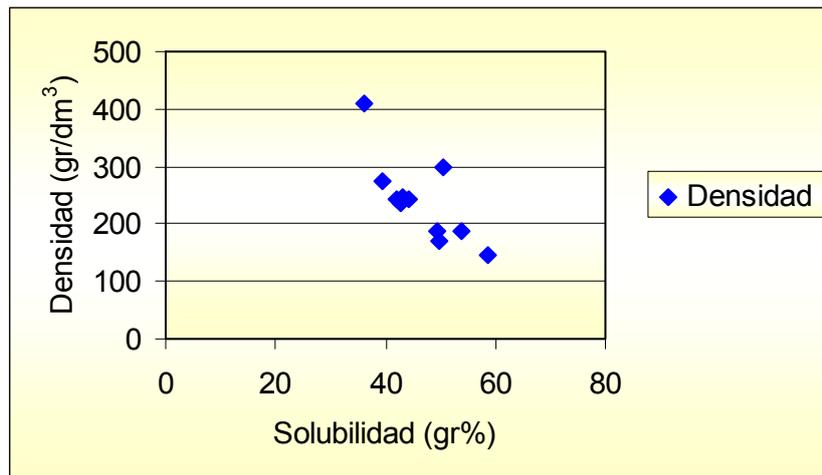
**Figura 4.3:** Relación entre los valores de CEEM y de la densidad correspondientes a las muestras de mezcla Dk-FI extrudidas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

<b>Muestra</b> <b>T / % H</b>	<b>Caudal</b> <b>(g/min)</b>	<b>Torque</b> <b>(UB)</b>	<b>CEEM</b> <b>(J/g)</b>	<b>Densidad</b> <b>(g/dm<sup>3</sup>)</b>	<b>Expansión</b>	<b>Dureza</b> <b>Sensorial</b>	<b>Resistencia a la</b> <b>Compresión (kg f)</b>	<b>Solubilidad</b> <b>(g %)</b>
DK-FI 150/15	75,0	6500	797	188,3	3,42	4	3,95	49,3
DK-FI 150/17	75,5	5700	695	299,3	2,89	8	7,40	50,5
DK-FI 150/19	76,0	5300	623	409,3	2,34	9	8,61	36,3
DK-FI165/15	79,0	6000	698	186,2	3,09	4	4,06	54,0
DK-FI 165/17	81,0	5400	613	234,1	3,17	5	4,48	42,8
DK-FI 165/17	81,7	5300	596	246,4	2,98	6	4,57	42,0
DK-FI 165/17	80,0	5200	605	254,9	2,89	6	5,07	43,1
DK-FI165/19	82,0	4800	538	275,7	2,58	7	6,41	39,6
DK-FI 180/15	79,5	5300	612	146,8	3,02	2	4,31	58,6
DK-FI 180/17	76,5	4700	565	169,2	2,98	3	4,49	49,9
DK-FI 180/19	78,7	4300	504	244,2	2,70	6	6,29	44,1
Dk 165/15	86,5	6400	680	--	3,51	--	--	--
Dk 165/17	84,0	5950	650	--	3,17	--	--	--
Dk 165/19	86,0	5300	570	--	2,81	--	--	--

**Tabla 4.2:** Muestras del diseño experimental correspondientes a las mezclas maíz-fríjol (*vigna* inactivada) (Dk-FI) y al maíz (Dk).

Con referencia a la solubilidad (S) se debe destacar que para extrusión de harina, esta propiedad es considerada un buen indicador del grado de cocción. La tabla 4.2 muestra una relación inversa con la H, mientras que con la T la relación no es tan clara en las condiciones intermedias de H (17%), no obstante se observa que S para 150/15 y 150/19 es menor que para 180/15 y 180/19. La Figura 4.4 muestra la relación entre S y la densidad, lo cual permite apreciar la tendencia que marca la disminución de S con el aumento de la densidad, es decir que se confirma la relación directa entre S y el GC.



**Figura 4.4:** Relación entre los valores de la Densidad y la Solubilidad correspondientes a las muestras de mezcla Dk-FI extrudidas.

#### 4.3. Modelos de regresión: Superficies de Respuestas:

La Tabla 4.3 muestra los resultados del análisis del ANOVA (valores de p) correspondientes a cada uno de los coeficientes del polinomio de regresión (superficie de respuesta), sobre el CEEM, expansión, densidad, resistencia mecánica, dureza sensorial y solubilidad. En todos los casos los efectos de ambas variables resultaron altamente significativos ( $p < 0,05$ ), a excepción de la expansión, para la cual

solo el término lineal para la humedad, resultó ser significativo, también en todos los casos la falta de ajuste no fue significativa ( $p > 0,05$ ), excepto para la solubilidad ( $p < 0,05$ ).

En la Figura 4.5 (a, b, c y d) se pueden observar las superficies de respuestas obtenidas para el CEEM, la densidad, la resistencia a la compresión y la dureza sensorial.

Las superficies obtenidas confirman lo ya discutido anteriormente, destacándose que para el CEEM el mayor valor corresponde a la condición 150 °C y 15% de humedad, mientras que el menor corresponde a la condición 180 °C y 19 %. Por su parte, para las tres respuestas directamente relacionadas (densidad, resistencia mecánica y dureza sensorial), los valores mas altos de estas características corresponden a 150°C y 19% y los más bajos a 180°C y 15%.

Si se tiene en cuenta que el valor de dureza para algunos productos comerciales (expandidos de maíz) evaluados en ensayos previos, estuvieron en el rango 3-5, se tomó a este como rango de aceptación para las muestras obtenidas en el diseño experimental. Además, para las muestras extrudidas a 180 °C se percibió un característico sabor a tostado el cual fue considerado no adecuado para este tipo de producto. Surge por lo tanto, que las condiciones más adecuadas para obtener un producto expandido con buenas características sensoriales son aquellas correspondientes a 15% para 150 °C y 165 °C. Los rangos de valores correspondientes a las otras respuestas que se corresponden con el rango de dureza sensorial aceptable son los siguientes: 3,1 -3,4 para expansión, 180 – 190 mg / cm<sup>3</sup> para densidad y 3,9 – 4,1 Kg para la resistencia mecánica.

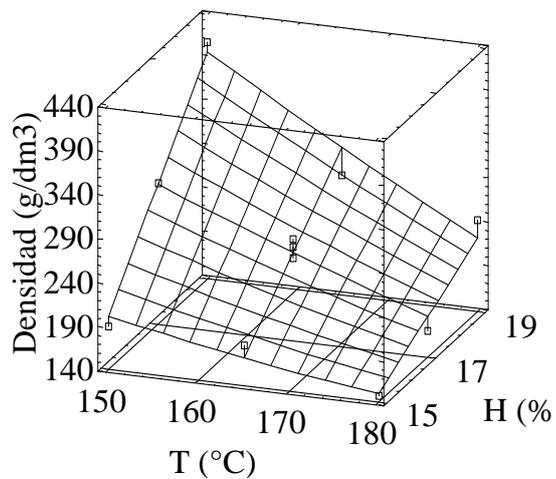
#### 4.4. Análisis de las características reológicas de las dispersiones de harinas obtenidas a partir de las muestras extrudidas.

En la Figura 4-6 se muestran a manera de ejemplo algunos reogramas de muestras correspondientes a 13% de concentración de sólidos. A los efectos de comparación se incluye una muestra de maíz extrudido a 165/15 para la misma concentración. También se puede destacar que la muestra de maíz presenta una menor viscosidad que las correspondientes a las mezclas maíz-fríjol. Esto podría ser atribuido a las diferencias en composición de ambos materiales o a un mayor grado de cocción de la muestra de maíz.

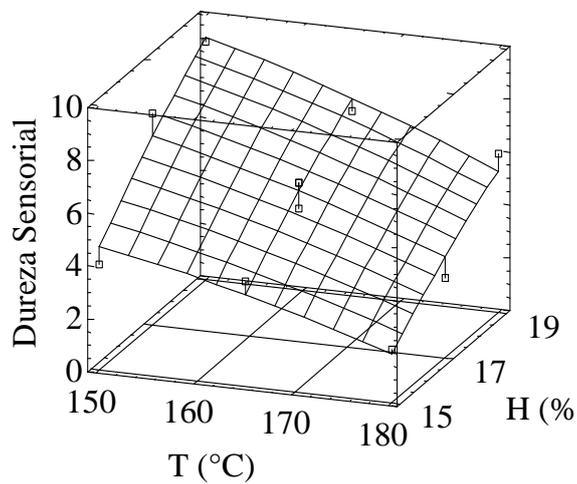
Fuente de variación	Valores de p					
	CEEM	Expansión	Densidad	Resistencia a la compresión	Dureza sensorial	Solubilidad
T	0,0023	0,8995	0,0058	0,0169	0,0149	0,0071
H	0,0022	0,0320	0,0039	0,0026	0,0061	0,0011
TxT	0,0622	0,8545	0,6565	0,2421	0,0930	0,0091
TxH	0,0605	0,1172	0,0275	0,2543	0,0978	0,3179
HxH	0,2557	0,3172	0,9954	0,4872	0,3971	0,4544
Falta de Ajuste	0,4150	0,7734	0,1266	0,6613	0,1115	0,0155

**Tabla 4.3:** Resultados del análisis de variancia (valores de p) correspondiente a los coeficientes del polinomio de regresión (superficie de respuesta)

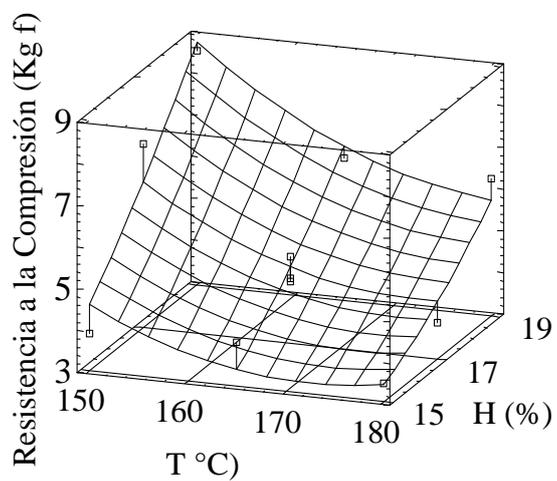
(a)

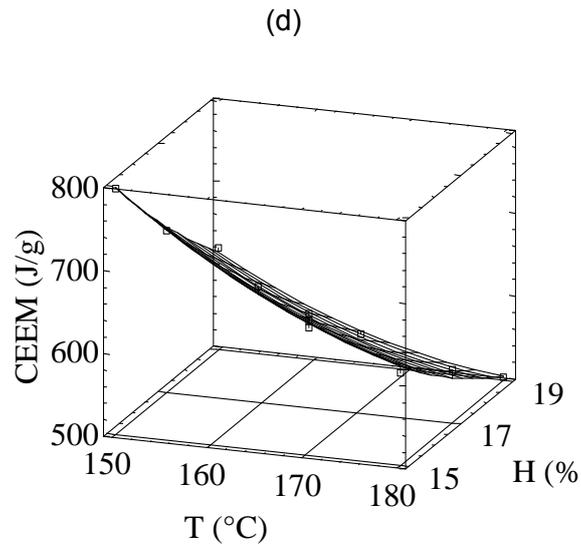


(b)

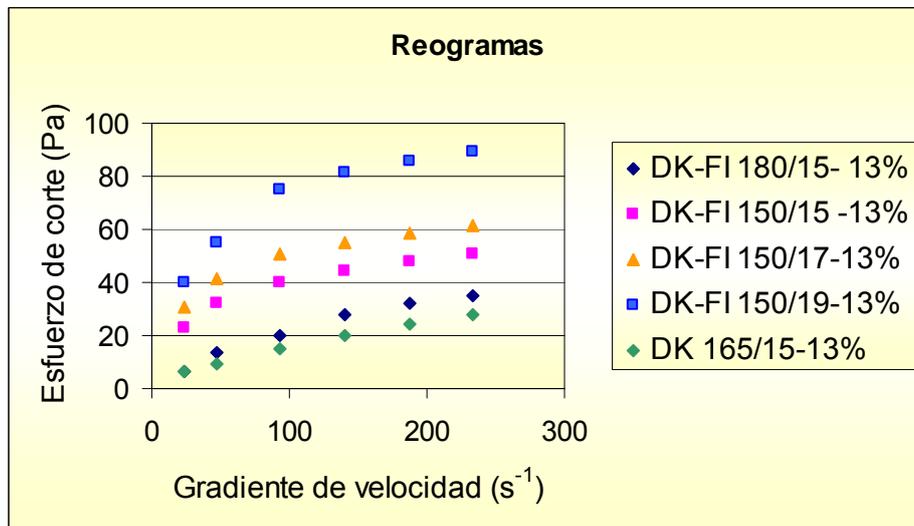


(c)





**Figura 4.5:** Superficies de respuesta obtenidas, correspondientes a CEEM (a), Densidad (b), Dureza sensorial (c) y Resistencia a la Compresión (d)



**Figura 4.6:** Reogramas correspondientes a algunas de las muestras para 13% de concentración

En la Tabla 4.4 se muestran los valores de los parámetros de la función de potencia ( $K$  y  $n$ ) correspondiente a todas las muestras del diseño, incluyendo también tres muestras de maíz (extrudidas a 165 °C y para los tres niveles de  $H$ ), para tres niveles de concentración de sólidos (10, 13 y 15%). Además se incluye una muestra comercial, pero para 5,9, 7,6 y 10,4 % de sólidos. Se puede observar claramente que la función de potencia ajusta adecuadamente los valores del esfuerzo de corte y del gradiente de velocidad para todos los reogramas, siendo los coeficientes de correlación superiores a 0,961.

Los valores de los coeficientes de pseudoplasticidad ( $n$ ) estuvieron comprendidos entre 0,35 y 0,75, aunque ninguna relación con las condiciones de proceso fue observada, contrariamente a lo que ocurre con los valores de  $k$ .

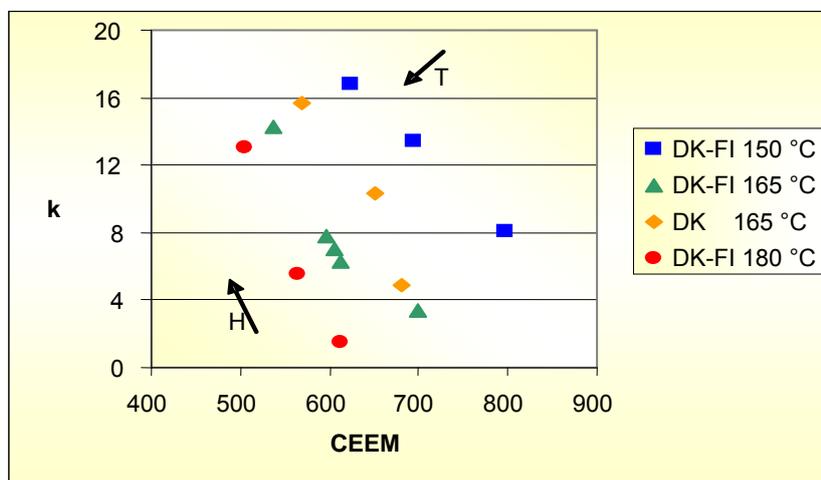
<b>Muestra</b>	<b>% Conc.</b>	<b>K</b>	<b>n</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
DK 165/15	10	0,464	0,655	0,931
DK 165/17		1,602	0,513	0,992
DK 165/19		1,787	0,598	0,982
DK 165/15	13	0,734	0,668	0,999
DK 165/17		3,898	0,472	0,998
DK 165/19		6,369	0,455	0,973
DK 165/15	15	4,854	0,373	0,987
DK 165/17		10,306	0,358	0,990
DK 165/19		15,705	0,419	0,981
DK-FI 150/15	10	1,671	0,485	0,999
DK-FI 150/17		4,345	0,366	0,979
DK-FI 150/19		2,850	0,528	0,991
DK-FI 150/15	13	8,502	0,333	0,981
DK-FI150/17		12,810	0,293	0,976
DK-FI 150/19		13,959	0,351	0,966

DK-FI 150/15	15	8,031	0,435	0,991
DK-FI 150/17		13,467	0,410	0,979
DK-FI 150/19		16,849	0,401	0,974
DK-FI 165/15	10	0,343	0,728	0,979
DK-FI 165/17		1,671	0,485	0,999
DK-FI 165/17		1,966	0,482	0,997
DK-FI 165/17		2,338	0,433	0,999
DK-FI 165/19		1,882	0,558	0,997
DK-FI 165/15	13	0,740	0,687	0,990
DK-FI 165/17		6,647	0,357	0,988
DK-FI 165/17		4,473	0,440	0,986
DK-FI 165/17		7,102	0,348	0,976
DK-FI 165/19		8,086	0,382	0,987
DK-FI 165/15	15	3,363	0,498	0,990
DK-FI 165/17		6,308	0,441	0,967
DK-FI 165/17		7,822	0,408	0,970
DK-FI 165/17		7,034	0,423	0,987
DK-FI 165/19		14,272	0,399	0,984
DK-FI 180/15	10	0,276	0,745	0,994
DK-FI 180/17		0,982	0,559	0,987
DK-FI 180/19		2,864	0,394	0,959
DK-FI 180/15	13	0,681	0,740	0,975
DK-FI 180/17		0,434	0,750	0,999
DK-FI 180/19		3,462	0,550	0,990
DK-FI 180/15	15	1,467	0,581	0,999
DK-FI 180/17		5,550	0,424	0,986
DK-FI 180/19		13,053	0,392	0,990

Sopa Comercial	5,9	0,970	0,441	0,999
	7,6	2,768	0,350	0,998
	10,4	7,583	0,329	0,999

**Tabla 4.4:** Coeficientes de la función de potencia correspondientes a las dispersiones de harinas de las muestras extrudidas de maíz Dk y de las mezclas maíz- frijol (DK-FI).

En la Figura 4.7 se observa que para cada nivel de humedad existe una relación directa entre CEEM y k. Además, tal como ocurre con el CEEM, k aumenta con H y disminuye con T. Esto indica que k (similarmente al CEEM), está directamente relacionado con el grado de cocción de la fracción amilácea, es decir con grado de destrucción de la estructura granular del almidón.

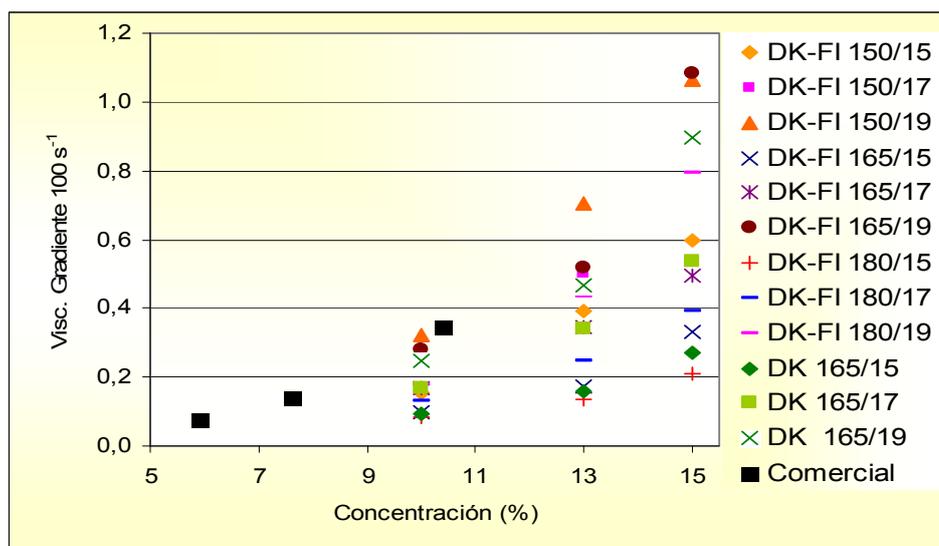


**Figura 4.7:** Relación entre los valores de k y CEEM correspondientes a maíz y a las mezclas maíz-fríjol (DK-FI).

Para poder comparar las viscosidades de las dispersiones, se utilizó la curva propuesta por Shama y Sherman (Szczecniak, 1979), quienes establecieron una

región que define los gradientes de velocidad aplicados entre la lengua y el paladar para un amplio rango de viscosidades. Para el caso de sopas tipo crema, el nivel de gradiente para viscosidades entre 0,150 y 0,200 Pa.s, se encuentra alrededor de 100 s<sup>-1</sup>, por lo tanto se adoptó ese gradiente para calcular la viscosidad de las dispersiones utilizando los modelos de potencia obtenidos para cada dispersión.

En la Figura 4.8 se observan las viscosidades para 100 s<sup>-1</sup> ( $\eta_{60^{\circ}\text{C},100\text{ s}^{-1}}$ ) correspondientes a todas las muestras y para cada concentración, observándose que los menores valores de viscosidad se obtienen para 180°C y 15%, y que los mayores corresponden a 150°C y 19%. Esto ocurre para todas las concentraciones. Además, los valores de viscosidad correspondientes a las muestras de maíz, son inferiores a las de la mezcla para las mismas condiciones de extrusión, lo cual es coherente con el mayor grado de cocción que presentan las muestras de maíz.



**Figura 4.8:** Viscosidades ( $\eta_{60^{\circ}\text{C},100\text{ s}^{-1}}$ ) de las dispersiones correspondientes a la muestra comercial y a las muestras extrudidas para distintas concentraciones.

Si se considera que para sopas tipo crema, un nivel de viscosidad de 0,200 Pa.s, es compatible con la aceptabilidad, se puede concluir que con algunas de las muestras extrudidas se pueden alcanzar concentraciones de sólidos de hasta 13 %, lo

que significa aumentar la densidad energética en más del 50% respecto a una sopa crema comercial.

#### 4.5 Superficies de respuesta del comportamiento reológico

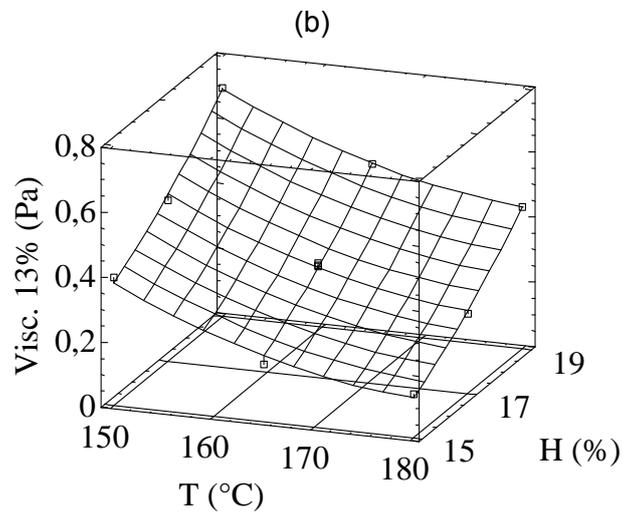
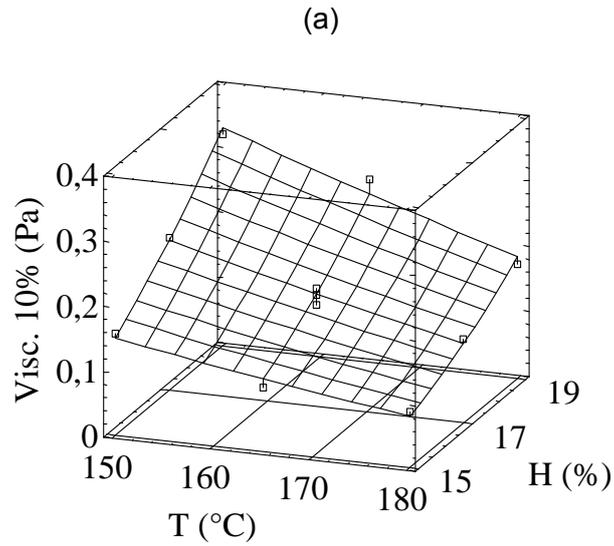
En la Tabla 4.5 se muestran los resultados del análisis de la variancia correspondiente a la viscosidad de las dispersiones de cada muestra para las tres concentraciones. En todos los casos los efectos de las dos variables son significativos y los modelos correspondientes pueden ser considerados adecuados, ya que la falta de ajuste no es significativa ( $p > 0,05$ ). No obstante se puede destacar que tanto para CEEM como para la viscosidad los términos lineales son los más significativos, excepto para la viscosidad a 13%, para cual el término TxT también lo es.

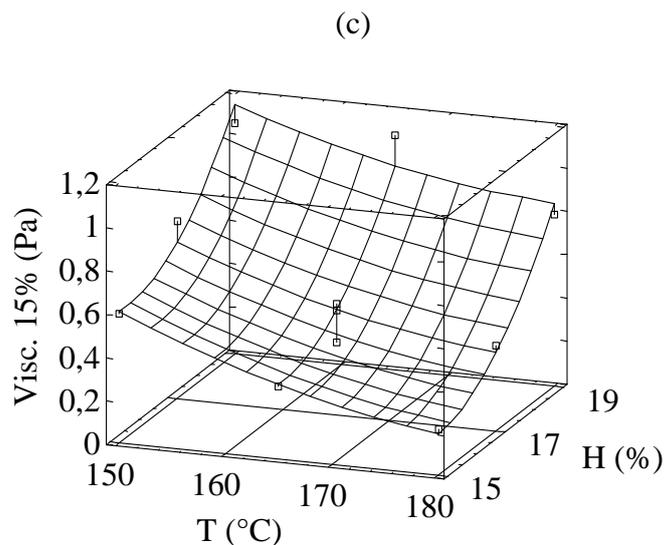
Fuente de variación	Valores de p		
	$\eta_{100\text{ s}^{-1}}$ (Pa .s)		
	10%	13%	15%
T	0,0089	0,0004	0,0381
H	0,0049	0,0002	0,0163
TxT	0,7050	0,0062	0,3471
TxH	0,0912	0,5381	0,6208
HxH	0,3018	0,0219	0,1447
Falta de ajuste	0,3073	0,0581	0,3159

**Tabla 4.5:** Resultados del análisis de variancia y polinomios de regresión de las superficies

La figura 4.9 (a, b y c), muestra las superficies de respuesta para la viscosidad (a 60°C y 100 s<sup>-1</sup>) de las dispersiones a: 10%, 13% y 15% (a, b, c) de sólidos.

Las superficies obtenidas son similares a las correspondientes a la densidad, resistencia mecánica y dureza sensorial, confirmando los efectos de T y H sobre el grado de cocción, es decir una relación inversa con H y una relación directa con T.





#### 4.6. Evaluación de las características nutricionales

Teniendo en cuenta los comentarios realizados en el punto 4.3, se seleccionó la muestra extrudida a 165°C y 15%, para la evaluación de las características nutricionales.

##### 4.6.1. Calidad proteica

##### 4.6.1. a Digestibilidad *in vitro* de proteínas

La digestibilidad *in vitro* de proteínas de la mezcla (DK-FI) fue de  $71,74 \pm 0,30$  % (de acuerdo a la técnica de (Genovese y Lajolo; 1996), tomando como referencia a la caseína (100%).

La digestibilidad de la misma mezcla fue determinada en otro laboratorio (Dr Chel-Mérida-México) con la técnica multienzimática de (Hsu et al; 1977) y resultó un valor de 83.29%. Este valor es significativamente mayor que el anterior, el cual es semejante a los obtenidos con estudios *in vivo* en ratas (Nielsen; 1991). No obstante, los valores de digestibilidad son todavía inferiores a los de las proteínas animales. Esta diferencia puede ser atribuida a varios factores, tales como la estructura proteica más compacta en las leguminosas, la presencia de otros componentes (minerales,

hemicelulosa), la formación de complejos de proteína y almidón (Nielsen, 1991). Y de enlaces entrecruzados entre proteínas (Balandràn-Quintana, et al, 1993).

#### **4.6.1. b Puntaje químico**

En la Tabla 4.6 se observa el perfil de aminoácidos de la mezcla maíz/frijol extrudida y el puntaje químico correspondiente, calculado según los datos de composición aminoacídica aportados por el Dr Luis Chel Guerrero-Mérida-México y el patrón sugerido por la FAO/ WHO de requerimiento de aminoácidos (mg/ g de proteína) para niños de 2 a 5 años de edad (Institute of Medicine, 2006). Considerando que el contenido de proteínas (10,4%) está compuesto de aproximadamente un 42% de proteínas de frijol y un 58% de proteínas de maíz, esta proporción se encuentra en el rango recomendado para obtener el máximo de complementación aminoacídica. El puntaje químico calculado para la mezcla fue de 72,6%, siendo el aminoácido limitante la lisina. Este valor es alrededor de 50% mayor que el del maíz, cuyo puntaje químico es 40%.

El agregado de fríjol no solo incrementó el contenido proteico, sino que además, mejora significativamente la calidad proteica por efecto de complementación de aminoácidos.

#### **4.6.2. Contenido y Dializabilidad de Fe y Zn.**

El contenido y la dializabilidad de Fe y Zn, correspondientes a las muestras del frijol inactivado sin extrudir y de la mezcla maíz/fríjol (85/15) extrudida se muestran en la Tabla 4.7.  $\bar{x} \pm DS$  (n=3). Estos resultados indican que la extrusión provoca un aumento significativo de la DFe %, mientras que por el contrario la DZn% disminuye, no obstante los valores para el Zn son muy aceptable. El efecto favorecedor de la extrusión sobre la DFe% y negativo sobre la DZn% ya fue observado en texturizados de soja (Drago, 2004).

Aminoácidos esenciales	Mezcla M/F** (mg AA)	mgAA/g de proteína mezcla	mg AA/ g prot de referencia <sup>+</sup>	Puntaje Químico
Histidina	317,55	30,82	19	162,2
Treonina	411,62	39,95	34	117,5
Fenilalanina+tirosina	926,52	89,93	63	142,7
Valina	455,65	44,22	35	126,4
Azufrados (cisteína+metionina)	352,31	34,19	25	136,8
Isoleucina	417,60	40,53	28	144,8
Leucina	979,60	95,08	66	144,0
Triptófano	348,30	33,81	11	307,3
Lisina	434,04	42,13	58	72,6

**Tabla 4.6** Puntaje Químico de la mezcla maíz/frijol 85/15 extrudida

\*\*mezcla M/F (maíz/ frijol: 85/15) <sup>+</sup> Proteína de referencia: patrón FAO para niños de 2 a 5 años. # Aminoácido Deficitario (Lisina)

Muestras	Fe (ppm BS)	DFe%	Zn (ppm BS)	DZn %
<b>Frijol</b>	55,9 ± 1,8	11,4 ± 1,4	19,3 ± 0,9	46,9 ± 3,0
<b>Mezcla M/F</b>	13,5 ± 0,6	20,6 ± 1,2	11,2 ± 0,3	43,5 ± 1,0

**Tabla 4.7:** Contenido y dializabilidad de Fe y Zn, correspondientes a las muestras del frijol inactivado sin extrudir y de la mezcla maíz/frijol (85/15).

## 5- CONCLUSIONES

-La cocción por extrusión de mezclas maíz colorado-*Vigna unguiculata* con la lipooxigenasa inactivada, permite obtener productos expandidos con buenas características de expansión.

- Tanto el CEEM como la densidad del producto expandido son buenos indicadores del grado de cocción.

- La resistencia mecánica y la dureza sensorial presentan una relación inversa con el grado de cocción.

- La cocción por extrusión de mezclas maíz-*vigna unguiculata* permite obtener harinas precocidas cuyas dispersiones presentan viscosidades significativamente inferiores a la de una muestra de sopa crema comercial a similar concentración. Si bien se pueden obtener harinas precocidas en distintas condiciones de extrusión, se debería seleccionar aquella con mayor grado de cocción, si se pretende una máxima densidad calórica.

-El reemplazo de un 15% del maíz por fríjol, no solo incrementó el contenido proteico en un 47%, sino que además, mejoró significativamente la calidad proteica por efecto de complementación de aminoácidos.

- La extrusión mejoró la DFe% y si bien afectó desfavorablemente la DZn%, el valor de ésta sigue siendo aceptable.

**6- BIBLIOGRAFÍA**

**AACC (American Association of Cereal Chemist). (1994).** "Approved Methods". St. Paul Minnesota.

**Abd Karim, A.; Norziah, M.H. and Seow, C. C. (2000).** "Methods for the study of starch retrogradation" (Review). *Food Chemistry*. 71: 9 – 36.

**Agency for International Development (AID-USA). (2000).** Proceedings: "Midcourse 2000 researchers meeting of the bean/cowpea collaborative research support program. Bean/Cowpea CRSP 2000". Center for International Programs Michigan State University, USA. April 9-14.

**Akenson, W.R and Stahmann, M.A. (1964).**"A pepsin pancreatin digest of protein quality evaluation".*Journal.Nutr* .83:257.

**Anderson, R.A.; Conway, H. F.; Pfeiffer, V. F.; Griffin, E. L. (1969).**"Gelatinization of corn grits by roll and extrusion-cooking". *Rev.Agrup. y Tec de Alim*.26 (4):552-564.

**A.O.A.C (Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist). (1990).** 14 TH. Williaw Horwitz (ed). Washington D.C., U.S.A.

**Balandrán-Quintana,R. R.;Barbosa-Cánovas G.V; Zazueta-Morales J.J; Anzaldúa-Morales A; Quintero-Ramos A. (1998).** "Functional and Nutritional Properties of Extruded Whole Pinto Bean Meal (*Phaseolus Vulgaris L.*)". *Journal of Food Science*. 63(1):113-116.

**Batterman Azcona, S.J and Hamaker, B.R. (1998).** "Changes occurring in protein body structure and  $\alpha$  zein during corn flake processing". *Cereal Chemistry*. 75:217-221.

**Barberá, R; Farré, R. (1992).**"Revisión: Biodisponibilidad de los elementos trazas". *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 32 (4) pp: 381-399.

**Benito,P and Miller,D. (1998).** "Iron absorption and bioavailability: an updated review". *Nutrition Research* 18(3):581-603.

- Biliaderis, C. (1991).** "The structure and modifications of starch with food constituent". *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69: 60-78.
- Bistany, K.L.; Kokini, J. L. (1983).** "Dynamic viscoelastic properties of foods in texture control". *Journal of Rheology*. 27: 605-620.
- Blanshard, J.M.V. (1987).**"Starch granule. Structure and function a physicochemical approach" Capitulo 2 en *Starch Properties and Potential Critical reports and Applied Chemistry* Volumen 13.
- Blanshard and Bowler. (1987).** "Morphology and composition of starch". En *Starch: Properties and Potential*. Ed T Galliard. Critical Reports on Applied Chemistry John Willey & Sons Chichester-GB. Cap: 3, p: 64.
- Bouzaza, D.; Arhaliass, A and Bouvier, J. M. (1996).** "Die design and dough expansion in low moisture extrusion cooking process". *Journal of Food Engineering*, 29(2): 139-152.
- Brenes, A.; Brenes, J. (1993).** "Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: Influencia sobre su valor nutritivo". *IX Curso de Especialización FEDNA*.
- Broughton, W. J; Hernández G.; Blair, M.; Beebe, S.; Gepts, P.; Vanderleyden, J. (2003).** "Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes". *Plant and Soil*. 252:55-128.
- Buchanan, R.A and Byers, M. (1969).** "Interference by cyanide with the measurement of papain hydrolysis". *Journal Science Food Agr*. 20:843.
- Buleón, A.; Colonna, P.; Planchot, V.; Ball, S. (1998).** "Starch granules: structure and biosynthesis". *International Journal of Biological Macromolecules*. 23, 85–112.
- Castañeda, W. (2000).** "El Fríjol o frijole" Facultad de Agronomía (UNPRG-Lambayeque). <http://www.monografias.com/trabajos4/elfrijol/elfrijol.shtml> (mayo 2003).

- Cheftel, J.C.; Cuq, J.L.; Lorient, D. (1989).** "Propiedades nutricionales de las proteínas". En: *Proteínas alimentarias*. Ed. Acribia S.A. 5: 107-139.
- Chel Guerrero L; Perez Flores V; Betancur Ancona D and Dávila Ortiz G (2002).** "Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds". *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 50 (3): 584-591.
- Cheryan, M.; Shukla, R. (2001).** "Zein: the industrial protein from corn". *Industrial Crops and Products* 13:171-192.
- Clydesdale, M.F. (1983).**"Physicochemical Determinants of iron Bioavailability". *Food Technology*.133-138.
- Colonna, P.; Buleon, A.; Mercier, C. (1987).** "Physically modified starches". En: *Starch: properties and Potential*. Ed. Galliard, T. John Wiley & Sons, New Cork. Cap. 4, p: 81.
- Crews, H.M.; Burrell ,J.A.; Mcweeny, D.J. (1983).** "Preliminary enzymolysis studies on trace element extractability from food". *Journal Science.Food Agric*. 34:997-1004.
- De Dios, C.; Puig, R.; Robutti, J.L. (1992).** "Tipificación de maíces por algunos caracteres de sus granos". Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Pergamino. Informe Técnico N° 265.
- Dickinson, E.; Mc-Clements, D.J. (1996).** "Protein-Polysaccharide Interactions". En: *Advances of Food Colloids*. UK. Chapman & Hall. 81-101.
- Dintzis, F.R.; Bagley, E.B. (1995).** "Effects of thermomechanical processing on viscosity behavior of corn starches". *Journal of Rheology*. 39(6): 1483-1495.
- Dos Santos Fernandez, M.; Wang, S; Ascheri, M.F, Costa, S.A.J. (2002).**"Productos extrusados expandidos de misturas de canjiquinha e soja para uso como petiscos". *Pesq agropec bras* Brasilia 37(10):1495-1501.
- Drago, S.R; Gonzalez, R.J; Torres, R; De Greef, D.M; Freyre, M.R; Valencia, M.E. (2004).** "Efecto del agregado de promotores en la disponibilidad de Fe, Zn y Ca

- de texturizado de soja". Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina 24-26/11.
- Duke, J.A. (1981).** "Handbook of Legumes of World Economic Importance Plenum" USA. p 302-306.
- Eyhérabyde, G.H.; Robutti, J.L. ; Puig, R.C. ; Luqui, B. (1996).** "Caracterización de la calidad física del grano de maíz de cultivares argentinos de maíz". *INTA-Pergamino*. Informe Técnico N° 313.
- Fairweather-Tait, S.J. (1987).** "The concept of bioavailability as it relates to iron nutrition". *Nutr.Res.* 7:319-325.
- Fast, R.B. (1991).** "Manufacturing Technology of Ready-to-Eat Cereals". En: *Breakfast Cereal and How They Are Made*. Fast, R.B. and Caldwell, E.F. editors. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA.15-42.
- Fehr, W.R.; Narvel, J.M.; Weldon, L.C. (2000).** "Analysis of soybean seed lipooxygenases". *Crop Science*. 40:838-840.
- Freitas, R.L., Teixeira, A.R., Ferreira, R. (2004).** Characterization of the proteins from *Vigna unguiculata* seeds. *J. Agric. Food Chem.* 52:1682-1687.
- Fritz, M; González, R; Carrara C, De Greef D, Torres R; Chel Guerrero L, (2005).** "Selección de las condiciones de extrusión para una mezcla maíz-frijol: aspectos sensoriales y operativos". CYTED BRASIL". *Brazilian Journal of Food Tech. III JIPCA* (disponible "on line" desde enero de 2006).
- Gauthier, C.; Vachon, C.; Savoir, L. (1986).**"Enzymatic Conditions of an in Vitro Method to Study Protein Digestion". *Journal of Food Science* 51(4):960-963.
- Genovese, M.I and Lajolo, F.M. (1996).** "In vitro digestibility of albumin proteins from *Phaseolus vulgaris*". Effect of chemical modification. *J Agric. Food Chem.*1996, (44):3022-3028.
- Gomez, M.H. (1985).** "Development of a food of intermediate moistness from extracts of corn and soybean". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 35(2):306-314.

**Gómez; M.H; Waniska; R.D and Rooney LW. (1991).** “Starch characterization of nixtamalized corn flour”. *Cereal Chemistry*. 68:578- 582.

**González, R.J.;Torres, R.L.; De-Greef, D.M.; Gordo, N.A. (1986).** “Evaluación de almidón de maíz precocido por extrusión-cocción”. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 26(4): 552-564.

**González, R.J.;Torres, R.L.; De Greef, D.M.; Gordo, N.A. (1987).** “Efectos de algunas variables de extrusión sobre la harina de maíz”, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 37 (3): 578-592.

**González, R.J. (1988).** Boletín de extrusión del ITA (UNL).

**González, R.J.;Torres, R.L.; De-Greef, D.M.; Gordo, N. A. (1990).** “Extrusión-Cocción de harinas de maíz: modelo para la viscosidad y su aplicación en las ecuaciones de flujo”. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 30(3): 347-355.

**González, R.J.; Torres, R.L.; De-Greef, D.M.; Gordo, N.A.; Velocci, M.E. (1991).** “Influencia de las condiciones de extrusión en las características de la harina de maíz para elaborar sopas instantáneas”. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 31(1): 87-96.

**González, R.J.; De-Greef, D.M.; Torres, R.L.; Gordo,N.** Patente nro. 247662: “Procedimiento para controlar la operación de extrusores autógenos”. Acordada 31-1995.

**González, R.J.; Osella, C.A.; Gordo, N.A. (1996).** “Parámetros indicadores del tratamiento térmico en porotos de soja desactivados”. *Revista Información Tecnológica. La Serena (Chile)*. 7(6): 119-124.

**González, R.J.; Peticari N. (1991).** “Industrialización integral de la soja”. *La Alimentación Latinoamericana - Sección PNITA (Argentina)*.187:50-59.

**González, R.J.; Torres, R.L.; De Greef, D.M. (1998).** “Comportamiento a la cocción de variedades de arroz y maíz utilizando el amilógrafo y dos diseños de extrusores”. *Información Tecnológica*. v. 9, n 5, p 35-43.

- González, R.J.; Torres, R.L.; Añón, M.C. (2000).** “Comparison of rice and corn cooking characteristic before and after extrusion”. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. 9(50), 1: 29-54.
- González, R.J.; Torres, R. L.; De Greef, D.M. (2002).** “Extrusión-Cocción de Cereales”. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 36(2): 104-115.
- González, R. J; De Greff, D. M; Torres, R. L, Robuti. J and Borrás, F. (2003).**  
“Effects of endosperm hardness and extrusion temperature on properties of products obtained with grits from two commercial maize cultivars”. *Food Sc and Technology /LwT*. 37: 193-198,
- González, R.J.; Robutti, J. L.; Borrás, F.S.; Torres, R.L.; De Greef, D.M. (2004).**  
“Effects of endosperm hardness and extrusion temperature on properties obtained with grits from commercial maize cultivars”. *Food Science and Technology /LwT*. 37: 193-198.
- Granados M y Lara J. (1989).** Alimentos de Origen Vegetal, pp. 77-79. Ed: CECOSA. México.
- Guy, R. (2001).** “Materias primas para la cocción por extrusión”. En Extrusión de los alimentos, Cap 2, Editor Guy, R, Acribia SA, Zaragoza.
- Harper, J.M. (1981).** “Extusion Food”. *CRC. Press. Boca Ratón, Florida*. pp: 127-163.
- Harper, J.M. (1989).** “Food extruders and their applications”. En: *Extrusion Cooking*. Mecier, C; Linko, P; Harper, J.M. editors. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 1-15.
- Harper, J. M. (1992).** “A Comparative analysis of single and twin screw extruders” en: Food extrusion Sc. and technology Cap. 8: 139-148. Ed: Kokini J. L. Ho Ch.T.and Karwe M. Marcel Dekker Inc New York. V.
- Harrod, M. (1989).** “Apparent concentration: a method to predict the flow properties of viscous foods for process applications”. *Journal of Food Process Engineering*. 11: 277-296.

- Hazell, T and Johnson, I. T. (1987).** "Effects of food processing and fruit juices on in vitro estimated iron availability from cereals, vegetables and fruits." *Journal. Science. Food Agric.* 38:73-82.
- Hernández, M.; De la Vega, A.; Sotelo, A. (1984).** "Determinación de la Digestibilidad Proteínica in vitro e in vivo en Cereales y Leguminosas Crudos y Cocidos". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 24(3):515-522.
- Hoseney, R.C. (1986).** "Structure of cereals". En: *Principles of cereal science and technology.* American Association of Cereal Chemists, inc. St. Paul, Minnesota, USA. pp :1-31.
- Hughes, M.H. (1999).** Forrajes, pp. 89-113. Continental. S.A.
- Hurrell, R.F. (1997).** "Bioavailability of iron". *European Journal of Clinical Nutrition.* Suppl 1, 84-88.
- Hussain, M.A., Basahy, A.Y. (1998).** Nutrient composition and amino acid pattern of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp, Fabaceae) grown in the Gizan area of Saubi Arabia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 49:117-124.
- Hsu, W.H., Sava, L.D.; Satterly, L.D and Miller, G.A (1977).** "A Multienzyme Technique for Estimating Protein Digestibility" *Journal of Food Science* 42(5):1269-1273.
- Institute of Medicine (2006).** "Protein and Aminoacid". En: *Dietary Reference Intake,* cap 10: 589-768. Ed. The National Academic Press. Washington DC. 2006.
- Jovanovich, G. (1997).** "Estudio de las interacciones entre almidón y lípidos en harina de trigo", pag. 2, Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.
- Kane, A.P. y Miller, D.D. (1984).** "In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability". *Am. Journal.Clin.Nutr.* 39:393-401.
- King, J.C; Donangelo, M.C; Woodhouse, L.R; Mertz, S.D; Shames, M.D; Viteri, F.E; Cheng, Z y Welch.R.M. (2000).** "Measuring iron and zinc bioavailability in humans" *Food and Nutrition Bulletin* 21 (4).

- Kokini, J.L.; Chang, C.N.; Lai, L.S. (1992a).** "The role of rheological properties on extrudate expansion". En: *Food Extrusion Science and Technology*. Ed Kokini.J, Ho Ch.T. Karwe. M: Marcel Dekker; NY. p: 631-652.
- Kokini, J.L.; Lih-Shiuh, L.A.I; Cheidd, L.L. (1992b).** "Effect of starch structure on starch rheological properties". *Food Technology*. 46(6): 124-139.
- Kokini, J.L.; Moraru, C.I. (2003).** "Nucleation and Expansion During Extrusion and Microwave Heating of Cereal Foods". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2: 120-138.
- Lagarrigue, S.; Alvarez, G. (2001).** "The rheology of starch dispersions at high temperatures and high shear rates: a review". *Journal of Food Engineering*. 50: 189-202.
- Lending, C.R.; Larkins, B.A. (1989).** "Changes in the zein composition of protein bodies during maize endosperm". *Plant Cell*. 1:1011-1023.
- Maroulis, Z..B.; Thymi, S.; Krokida, M.K.; Pappa, A. (2004).** "Structural properties of extruded corn starch". *Journal of Food Engineering*. 68(4): 519-526.
- Mason, W.R.; Hosney, R.C. (1986).** "Factors affecting the viscosity of extrusion-cooked wheat starch". *Cereal Chemistry*. 63(5): 436-441.
- Mecier and Feillet . (1975).** "Modification of carbohydrate components by extrusion-cooking of cereal products. *Cereal Chemistry*. 52: 283-297.
- Messina, M.J. (1999).** "Legumes and soybeans: overview of their nutritional profile and health effects". *American Journal of Clinical Nutrition*. 70: 439-450.
- Miller, D.O., Schricker, B.R., Rasmussen, R.R. y Van Campen, D. (1981).**"An in vitro method for estimation of iron bioavailability from meals". *Am. Journal. Clin. Nutr.* 34(2):248-256.
- Miller, D.O and Berner, L.A. (1989).**Is solubility in vitro a reliable predictor of iron bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res.* 19:11.
- Morris, V.J. (1998).** "Gelation of polysaccharides". En: *Functional Properties of Food Macromolecules*. New York: Aspen Publication. 143- 226.

- Muller, H.G. (1973).** "Introducción a la reología de los alimentos". *Ed. Acribia. Zaragoza. España.*
- Narasinga Rao, B.S and Prabhavathi, T. (1978).** "An in vitro method for predicting the bioavailability of iron foods" *Am Journal Clin Nutr.*31:169-175.
- Nielsen, P.M.; Petersen, D.; Dambmann, C. (2001).**"Improved method for determining food protein degree of hydrolysis". *Journal of food Science* 66, 642-646.
- O' Dell, B.L. (1985).** "Bioavailability and interactions among trace elements". En: Chandra, R.K.(Ed),*Trace Elements in Nutrition of Children.* New York:Raven Press.Nestlé Nutrition.Vevey,pp.41-62.
- Onwuliri, V.A.; Obu, J.A. (2002).** "Lipids and other constituents of *Vigna unguiculata* and *Phaseolus vulgaris* grown in northern Nigeria" *Food Chemistry.* 78:1-7.
- Oropeza, E.; Ortiz, L.B. (1989).** "Evaluación nutrimental de la proteína del grano de seis cultivares de maíz (*Zea mays* L.)". *Revista Facultad de Agronomía.* 15: 225-234.
- Osella, C.A. (2000).** Tesis de Magíster en Ciencias y Tecnología de Alimentos." Pan sin gluten: Influencia de la composición y de la historia térmica de los constituyentes sobre sus propiedades termofísicas". UNL-FIQ-ITA.
- Percibaldi, N.M. (2003).** Tesis de Magíster en Ciencias y Tecnología de Alimentos. "Variación de la composición lipídica en germen y endospermo de variedades de maíz argentino y su asociación con el proceso de extrusión". UNL-FIQ-ITA.
- Park, J.; Rhee, K.S.; Kim, B.K and Rhee, K.C. (1993).** "Single –screw extrusion of defatted soy flour, corn starch and raw beef blends". *Journal of Food Science* 58 (1):9-19.
- Pratt, R.C.; Paulis, J.W. ; Miller, K. ; Nelsen, T. ; Bietz, J.A. (1995).** "Association of zein classes with maize kernel hardness". *Cereal Chemistry.* 72(2): 162-167.
- Prentice, J.H. (1984).** "Measurement in the rheology of foodstuffs". *Elsevier Applied Science Publishers LTD. London and New York.*

- Rangel, A., Domont, G.B., Pedrosa, C. Ferreira, S.T. (2003).** Functional properties of purified vicilins from cowpea (*Vigna unguiculata*) and pea (*Pisum sativum*) and cowpea protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5792-5797.
- Rhinehart, D. (1975).** "A nutritional characterization of the distiller's grain protein concentrates". *MS thesis. Universidad of Nebraska. Lincoln NE.*
- Rivera, J.M. 1995.** Técnicas de cultivo de frijol lb y X pelón en el poblado de Conkal-Yucatán. Tesina. Licenciado en Biología Conkal, Yucatán, México, Instituto Tecnológico Agropecuario N° 2.
- Robb,P., Williams, D.R y Mcweeny, D.J. (1986).** Predicted chemical speciation of essential metals in digested food. *Inorg Chim. Acta* 125:207-212.
- Robutti, J.L. (1995).** "Maize Kernel Hardness Estimation in Breeding by Near-Infrared Transmission Analysis". *Cereal Chemistry.* 72(6):632-636.
- Robutti, J.L.; Borrás, F.S.; González, R.J.; Torres, R.L.; De Greef, D.M. (2002).** "Endosperm properties and Extrusion cooking behaviour of maize cultivars". *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie.* 35: 663-669.
- Sáenz E .M. (1995).** "Técnicas de cultivo de leguminosas (frijol. lb y Xpelón) en el estado de Yucatán". Tesis Ingeniero Agrónomo. Conkal, Yucatán, México, Instituto Tecnológico Agropecuario N° 2.
- Sandberg, A.S and Svanberg, U. (1991).** "Phytate Hydrolysis by Phytase in Cereals; Effects on in Vitro Estimation of Iron Availability" *Journal of Food Science.* 56(5):1330-1333.
- Sandhu, K.S.; Singh, N.; Kaur, M. (2004).** "Characteristics of the different corn types and their fractions: Physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches". *Journal of Food Engineering.* 64:119-127.
- Santiesteban, R.; Zamora, A.; Hernandez, L .; Armela, E.; Gomez, E. (2001).** "Densidad de siembra en frijol (*Vigna raviata* (L)) en dos épocas, en suelos fluviales. Revista Electronica Granma Ciencia (en línea). 5(2) Disponible en: [http://www.granma.inf.cu/grciencia/vol5/no.2art/2001\\_05\\_02\\_a06.pdf](http://www.granma.inf.cu/grciencia/vol5/no.2art/2001_05_02_a06.pdf) (Mayo2003)

**Saunders, R.M.; Connor, M.A.; Booth, A.N.; Bickoff, E.M.; and Khoeler, G.O. (1973).**

“Measurement of digestibility of alfalfa protein concentrates by in vivo and in vitro methods”. *Journal Nutr.* 103:530.

**Sherman, P.J. (1991).** Leguminosas forrajeras tropicales, pp. 19-33. Editorial Roma.

**Shewry, P.R.; Halford, N.G. (2002).** “Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization”. *Journal of Experimental Botany, Inorganic Nitrogen Assimilation Special Issue.* 53(370): 947-958.

**Singh, N.; Singh, J.; Kaur, L.; Sodhi, N. S.; Gill, B. S. (2003).** “Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources”. *Food Chemistry.* 81: 219-231.

**Snape, W.J. (1987).** “Is exact correlation between in vivo and in vitro measurements important” *Dig. Dis. Sci* 32:547-549.

**South, P.K.; and Miller, D.D. (1997).** “Iron binding by tannic acid: effects of selected ligands” *Food Chemistry* 63(2) 167-172.

**Stroshine, R.L.; Kirleis, A.W.; Tuite, J.F.; Bauman, L.F.; and Emam, A. (1986).** “Differences in grain quality among selected corn hybrids”. *Cereal Food World.* 31: 311.

**Szczecniak, A.S. (1979).** “Recent Developments in Solving Consumer Oriented Texture Problems”. *Food Technology,* 33(10): 61-66.

**Tecson, M.E., Adachi, M. (2001).** Mugbean *Vigna radiata* (L.) Wilczek globulins: Purification and Characterization. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1552-1558.

**Wastke, J.H. (1998).** “Impact of processing on bioavailability examples of minerals in food” *Food Science and Technology* 9: 320-327.

**Watson, S.A. (1987a).** “Structure and composition”. En: *Corn: Chemistry and Technology.* S.A. Watson and P.E. Ramstad, eds. AACC. St. Paul, Minnesota, USA. Pp. 53-82.

**Watson, S.A. (1987b).** "Measurement and maintenance of quality". En: *Corn: Chemistry and Technology*. S.A.Watson and P.E. Ramstad, eds. AACC. St. Paul, Minnesota, USA. Pp. 125-183.

**Wolfgor, R.; Drago, S.R.; Rodriguez, V.; Pellegrino, N.; Valencia, M. (2002)** "In vitro measurement of available iron in fortified foods". *Food Res. Internat.*, 35, 85-90.

**Yeung, V.R. (1991).** "Soy protein in relation to human protein and amino acid nutrition". *Journal of American Diet Association*. 91(7):828-835.

**Zobel, H.F., Young, S.N.; Rocca, L.A. (1988).** "Starch gelatinization: an X-ray diffraction study". *Cereal Chemistry*. 66, 443-446.