

## Universidad Autónoma de Querétaro

#### Facultad de Química

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

"Desarrollo y caracterización química y nutracéutica de un pan de caja a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.)"

#### **Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos

#### Presenta:

LCN. María Jaqueline Palomares Navarro

#### Dirigido por:

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2021.



# Universidad Autónoma de Querétaro Facultad de Química Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

# "Desarrollo y caracterización química y nutracéutica de un pan de caja a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.)"

#### **Tesis**

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

> Presenta LCN. María Jaqueline Palomares Navarro

Dirigido por Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña	<u></u>
Presidente	Firma
<u>Dra. Marcela Gaytán Martínez</u> Vocal	Firma
<u>Dra. María de la Luz Reyes Vega</u> Vocal	Firma
<u>Dra. Rocio Campos Vega</u> Suplente	Firma
<u>Dra. Montserrat Hernández Iturriaga</u> Suplente	Firma
Dra. Silvia Lorena Amaya Llano Directora de la Facultad	Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña Directora de Investigación y Posgrado
Directora de la Facultad	Directora de investigación y i osgrado

#### **DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

Jaqueline Palomare

LCN. María Jaqueline Palomares Navarro

#### **DEDICATORIA**

A mis padres Alma y Julián.

Dirección General de Bibliotecas Unión.

#### **AGRADECIMIENTOS**

A mis papás: Alma y Julián por la paciencia, confianza y apoyo que siempre me han dado para poder llevar a cabo mis metas y sueños.

A mi hermano Julián por estar en cada paso de mi desarrollo como profesional, por su guía y por siempre creer en mí.

A la Dra. Flavia por confiar en mí para la realización de este proyecto, por su tiempo y por sus consejos profesionales y consejos de vida.

A mi comité de tesis: Dra. Rocio, Dra. Montse, Dra. Luz y Dra. Marcela por todas sus revisiones, por su tiempo y sus aportaciones para el desarrollo de la tesis.

A mi familia de Querétaro: Rebe, Diego, Alexis, Pao y Abi. Gracias por todos los momentos compartidos, por ser mi familia cuando estaba lejos de casa, por los días y noches de estudio, por esos viajes, por las risas y por la comprensión a lo largo de la amistad que hemos formado.

A mis amigas: Denisse, Gina y Marlenne por su amistad y fidelidad, por no dejarme sola a pesar de la distancia, por confiaren mí y darme ánimos cuando los necesitaba.

A Dani, Caro, Ana y Maricela por darme fuerzas para lograr cada reto a pesar de estar en lugares diferentes del mundo. También por estar conmigo en mi trayectoria como profesional y todos sus consejos brindados para mi formación.

A Edgar por darme su apoyo incondicional en los últimos momentos del desarrollo de mi tesis y darme confianza para terminar a pesar de todo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la ayuda financiera para hacer posible la realización del proyecto.

También a "Fondo Química Somos Todos 2020" por el apoyo económico y poder realizar la investigación de este trabajo.

A mis maestras Dra. Rosalía, Dra. Sandra y Dra. Sofí por todas sus aportaciones a mi conocimiento.

Finalmente, quiero agradecer a mis compañeros de generación y a mis compañeros del laboratorio, así como a todas las personas que se cruzaron conmigo durante estos dos años, los cuales me ayudaron en la realización de este trabajo. Muchas gracias.

# **ÍNDICE GENERAL**

ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
RESUMEN	
ABSTRACT	XI
I. INTRODUCCIÓN	12
II. ANTECEDENTES	13
II.1. Pan de caja	13
II.1.1 Consumo de pan en México	13
II.1.2 Pan en la salud y nutrición	14
II.1.2 Pan en la salud y nutrición	14
II.3. Frijol común ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	17
II.3.1 Generalidades	
II.3.2 Consumo de frijol en México	17
II.3.3 Composición química y nutricional	18
II.3.4 Compuestos bioactivos	19
II.3.4.1 Compuestos fenólicos	19
II.3.4.2 Saponinas	22
II.3.4.3 Fibra Dietaria	23
II.3.4.4 Almidón resistente	24
II.3.5 Factores antinutricionales	25
II.3.5.1 Lectinas y enzimas inhibidoras	25
II.4. Maíz (Zea mays L.)	26
II.4.1 Generalidades	26
II.4.2. Consumo de maíz en México	26
II.4.3. Composición química y nutricional	26
II.4.4 Compuestos bioactivos	30
II.4.4.1 Compuestos fenólicos	30
II.4.4.2 Carotenoides	31

II.4.4.3 Fitoesteroles	
II.4.4.4 Almidón resistente	
II.5. Tecnologías emergentes aplicadas en harinas33	
II.5.1 Extrusión33	
II.5.2 Calentamiento óhmico	
III. JUSTIFICACIÓN37	
IV. OBJETIVOS	
IV. 1 Objetivo general38	
IV.2 Objetivos específicos	
V. MATERIALES Y MÉTODOS	
V.1. Materiales39	
V.1.1 Reactivos	
V. MATERIALES Y METODOS       39         V.1. Materiales       39         V.1.1 Reactivos       39         V.1.2 Materia Prima       39	
V.1.2.1 Harina de frijol y maíz39	
V.2. Métodos41	
V.2.1 Parámetros fisicoquímicos de harinas41	
V.2.1.1 Índice de absorción de agua41	
V.2.1.2 Capacidad de absorción de aceite42	
V.2.2 Caracterización química42	
V.2.2.1 Determinación de humedad42	
V.2.2.2 Determinación de cenizas	
V.2.2.3 Determinación de lípidos	
V.2.2.4 Determinación de proteínas44	
V.2.2.5 Determinación de carbohidratos45	
V.2.3 Caracterización nutracéutica45	
V.2.3.1 Fibra total dietaria45	
V.2.3.2 Extracción de compuesto fenólicos	
V.2.3.3 Cuantificación de fenoles totales47	
V.2.3.4 Cuantificación de flavonoides47	
V.2.3.5 Cuantificación de taninos condensados48	
V.2.4 Capacidad antioxidante48	

V.2.4.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH	48
V.2.4.2 Capacidad antioxidante por el método ABTS	48
V.2.5 Formulación del pan de caja	49
V.2.6 Digestibilidad in vitro	49
V.2.6.1 Digestibilidad in vitro de proteínas	49
V.2.6.2 Digestibilidad in vitro de carbohidratos	50
V.2.7 Propiedades físicas del pan	
V.2.8 Análisis del perfil de textura	53
V.2.9 Análisis microbiológico	53
V.2.10 Análisis estadístico VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
VI.1 Composición química y nutracéutica de las harinas de frijol y maíz	55
VI.1.1 Composición química de las harinas	55
VI.1.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de harinas	57
VI.1.3 Contenido de fibra dietaria en harinas de frijol y maíz	60
VI.2 Parámetros fisicoquímicos en las harinas de frijol y maíz	62
VI.3 Formulación del pan de caja	64
VI.4 Pruebas físicas y parámetros de textura del pan de caja de frijol y maíz	66
VI.4.1 Pruebas físicas del pan de caja	66
VI.4.2 Parámetros de textura del pan de caja	67
VI.5 Evaluación de calidad microbiológica del pan de caja	70
VI.6 Composición química y nutracéutica del pan de caja de frijol y maíz	71
VI.6.1 Composición química del pan de caja	71
VI.6.2 Composición nutraceútica del pan de caja	73
VI.7 Digestibilidad in vitro de carbohidratos del pan de caja	78
VI.8 Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas del pan de caja	80
CONCLUSIÓN	82
BIBLIOGRAFÍA	84

# **ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro 1. Aporte de nutrimentos en el maíz (g/100 g)28
<b>Cuadro 2</b> . Contenido de proteínas, lípidos, cenizas y carbohidratos en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico
<b>Cuadro 3.</b> Contenido de fenoles totales, flavonoides y taninos condensados en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico
Cuadro 4. Capacidad antioxidante de harinas de frijol y maíz por extrusión y por calentamiento óhmico
<b>Cuadro 5.</b> Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico61
Cuadro 6. Índice de absorción de agua y aceite de harinas de frijol y maíz62
Cuadro 7. Ingredientes usados en el pan de caja de frijol y maíz64
<b>Cuadro 8.</b> Peso, altura y volumen específico de los panes realizados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico y un tratamiento tradicional66
<b>Cuadro 9.</b> Parámetros de textura de los panes elaborados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico y un tratamiento tradicional, y pan artesanal obtenido en una panadería comercial
<b>Cuadro 10.</b> Estimación de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, mohos y levaduras de los panes de frijol y maíz, y pan artesanal70
<b>Cuadro 11.</b> Composición química de panes elaborados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico y un tratamiento tradicional, y pan artesanal obtenido en una panadería comercial
<b>Cuadro 12.</b> Contenido de fenoles totales, flavonoides y taninos condensados de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal
Cuadro 13. Capacidad antioxidante de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.76
<b>Cuadro 14.</b> Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal
<b>Cuadro 15.</b> Contenido de almidón total y disponible, y digestibilidad <i>in vitro</i> de carbohidratos de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal

Cuadro 16. Digestibilidad in vitro de proteínas panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.80

pan ark

Dirección General de Bibliotecas

Dirección General de Pibliotecas

#### **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Muestra de biopsia yeyunal. A. Mucosa alterada muestra atrofia y aplanamiento de las vellosidades. B. Mucosa normal
Figura 2. Estructura química del ácido ferúlico20
Figura 3. Estructura molecular de los principales flavonoides presentes en frijo común
Figura 4. Estructura molecular de taninos condensados21
Figura 5. Estructura de soyasaponina I presente en frijol común
Figura 6. Grano de maíz entero
Figura 7. Cianidina-3-glucósido, antocianina presente en maíz
Figura 8. Extrusor de un tornillo
Figura 9. Diagrama del proceso de calentamiento óhmico
Figura 10. Pan de caja a base de frijol y maíz elaborados con harinas obtenidas po extrusión y calentamiento óhmico
eccion

#### **RESUMEN**

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y el maíz (*Zea mays* L.) ofrecen beneficios para la salud debido a su abundancia en nutrientes, como proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, así como compuestos bioactivos (fibra dietética, compuestos fenólicos y fitoesteroles). El objetivo del proyecto fue desarrollar un pan sin gluten a base de frijol común y maíz, con potencial nutracéutico, que se brinde especialmente a personas con intolerancia al gluten y/o enfermedad celíaca. Se evaluaron dos tecnologías (calentamiento óhmico y extrusión) para obtener harinas de frijol y maíz. Se determinaron sus características químicas, fisicoquímicas y nutracéuticas, así como la evaluación de los parámetros de textura y la calidad microbiológica del pan. Las harinas por calentamiento óhmico presentaron los mayores valores de proteína y lípidos. El valor más alto de compuestos fenólicos fue 1.74 mg eq. ácido gálico/g de muestra en harina de frijol por calentamiento óhmico, mientras que los flavonoides (0.12 mg eq. de rutina/g de muestra) fueron menores que con extrusión. La mejor capacidad antioxidante fue en la harina de frijol por calentamiento óhmico con 4727.84 µmoles eq. muestra trolox/g, con método ABTS. Para los parámetros de dureza y cohesión del pan, hubo una ventaja con diferencia estadística (p ≤0.05) entre las tecnologías de extrusión y calentamiento óhmico, respecto a un método tradicional de obtención de harina. Asimismo, dentro de la composición química y nutraceútica no hubo diferencia entre las tecnologías (p ≥ 0.05), pero si fue mayor con respecto al pan comercial libre de gluten con hasta 4 veces más de proteína, 0.92 mg eq. ácido gálico/g de fenoles totales y 4071.85 µmoles eq. muestra trolox/g de capacidad antioxidante. Además, se observó una mayor cantidad de fibra total con 8.58 %. En conclusión, las tecnologías de extrusión y calentamiento óhmico, así como el uso del frijol y el maíz pueden ser una alternativa para el desarrollo de un pan de caja libre de gluten, con ventajas sobre un método tradicional y un pan libre de gluten comercial.

**Palabras clave**: *Phaseolus vulgaris* L., *Zea mays* L., pan libre de gluten, alimentos nutracéuticos.

#### **ABSTRACT**

Common beans (Phaseolus vulgaris L.) and corn (Zea mays L.) offer health benefits due to their abundance of nutrients, such as proteins, lipids, carbohydrates, vitamins and minerals, as well as bioactive compounds (dietary fiber, compounds phenolics and phytosterols). The objective of the project was to develop a gluten-free bread based on common beans and corn, with nutraceutical potential, which is especially offered to people with gluten intolerance and/or celiac disease. Two technologies (ohmic heating and extrusion) were evaluated to obtain bean and corn flours. Its chemical, physicochemical and nutraceutical characteristics were determined, and the texture parameters and microbiological quality of the bread were also evaluated. The flours by ohmic heating presented the highest protein and lipid values. The highest value of phenolic compounds was 1.74 mg eq. gallic acid/g sample in bean flour by ohmic heating, while flavonoids (0.12 mg rutin eq/g sample) were lower than with extrusion. The best antioxidant capacity was in bean flour by ohmic heating with 4727.84 µmol eq. sample trolox/g, with ABTS method. For the parameters of hardness and cohesion of bread, there was an advantage with statistical difference (p  $\leq$  0.05) between extrusion and ohmic heating technologies, compared to a traditional method of obtaining flour. Likewise, within the chemical and nutraceutical composition there was no difference between the technologies ( $p \ge 0.05$ ), but it was greater with respect to commercial gluten-free bread with up to 4 times more protein, 0.92 mg eq. gallic acid/g of total phenols and 4071.85 µmol eq. sample trolox / g of antioxidant capacity. In addition, a greater amount of total fiber was observed with 8.58%. In conclusion, extrusion and ohmic heating technologies, as well as the use of beans and corn, can be an alternative for the development of a gluten-free bread, with advantages over a traditional method and commercial gluten-free bread.

Keywords: Phaseolus vulgaris L., Zea mays L., nutraceutical foods, gluten-free

#### I. INTRODUCCIÓN

El frijol común (Phaseolus vulgaris L.) y el maíz (Zea mays L.) son la principal fuente de proteína y carbohidratos para algunos sectores de la población mexicana e históricamente reconocidos como la dieta tradicional. A pesar de ser alimentos tan populares, su consumo ha ido disminuyendo debido a los cambios en la alimentación, al estilo de vida e inclusive a la inserción de la mujer al sector productivo. Por otro lado, el frijol y el maíz pueden ser utilizados como ingredientes para la elaboración de alimentos libres de gluten, ya que carecen de este. El mercado de este tipo de alimentos ofrece distintos productos, principalmente para personas que padecen de enfermedad celiaca, sensibilidad o intolerancia al gluten. Sin embargo, la mayoría de estos productos que se encuentran en la industria de alimentos son pobres en su aporte nutricional, repercutiendo en la alimentación de la población. Se sabe que el pan es uno de los alimentos en los que se tiene la mayor problemática, ya que su calidad depende en gran parte de la funcionalidad y las propiedades del gluten. Recientemente se ha mostrado interés por las leguminosas ya que pueden contribuir en la formación de estructura y textura de este tipo de pan, además de enriquecer su composición nutricional y de compuestos nutraceúticos, los cuales pueden tener un beneficio nutricional.

Del mismo modo, se han utilizado diversas tecnologías para la elaboración de harinas y el desarrollo de productos libres de gluten. Algunas de estas tecnologías son la extrusión y el calentamiento óhmico, las cuales se han perfilado como innovadoras en la tecnología de alimentos, ya que se ha reportado que tienen beneficios tecnológicos, ambientales y mejoramiento en el aprovechamiento de nutrientes y compuestos nutracéuticos, en comparación con los métodos convencionales.

Por lo anterior, este trabajo se centró es realizar investigación para evaluar la compatibilidad del frijol común y el maíz para ser ingredientes funcionales y obtener características organolépticas y nutricionales de un pan de caja libre de gluten.

#### II. ANTECEDENTES

#### II.1. Pan de caja

El pan es considerado un alimento básico en la dieta de los seres humanos desde hace 7000 años, formando parte de la cultura popular de diferentes civilizaciones. Su proceso de panificación mejoró en Egipto y Roma, pero sólo hasta la segunda mitad del siglo XX, cuando sobresale como un componente central de la dieta, fue cuando cambiaron gradualmente los procesos de producción y comercialización, adaptados a nuevos mercados urbanos (Quílez y Salvadó, 2013).

De acuerdo a la NOM-247-SSA1-2008, se denomina pan blanco al producto que resulta de hornear una masa obtenida de harina fermentada, agua, sal, acondicionadores y mejoradores de masa, adicionado o no de aceites y grasas comestibles, leche, otros ingredientes y aditivos para alimentos. Asimismo, al pan de harina integral se le conoce como producto que resulta de la panificación de la masa fermentada, preparada con mezclas de harina de trigo integrales, harinas de cereales integrales o harina de leguminosas, agua, sal, azúcares, grasas comestibles, otros ingredientes opcionales y aditivos para alimentos.

#### II.1.1 Consumo de pan en México

En relación con la ingesta de pan, se sabe que el consumo per cápita anual de pan es de 33.5 kg, de acuerdo con la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA), de los cuales el 75 % corresponde a pan blanco, y el restante a pan dulce, galletas y pasteles. La frecuencia con la que se consume el pan en el país, de al menos una vez en el día, es de un 38 %, siendo Ciudad de México, Puebla y Querétaro las principales entidades de consumo (Consumo de Pan en México, 2020).

#### II.1.2 Pan en la salud y nutrición

El pan aporta una gran cantidad de carbohidratos que proveen energía al cuerpo, asimismo, es una fuente de proteína vegetal, vitamina B, vitamina E, hierro, potasio, calcio y selenio. Según el Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes, una rebanada de pan de caja común aporta 71 kcal, 2.2 g de proteína, 0.8 g de lípidos, 13.6 g de carbohidratos y 0.5 g de fibra.

A pesar de sus aportes nutricionales, el pan blanco puede contribuir al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas no transmisibles (ECDNTs), tales como obesidad y diabetes (Kourkouta *et al.*, 2017). El pan a base de harina de trigo tiene un alto índice glucémico (>70), debido a que el proceso de elaboración del pan favorece la accesibilidad del almidón a las α-amilasas pancreáticas, haciendo que se digiera rápido; asimismo, el almidón es altamente gelatinizado durante el proceso de cocción, por lo que incrementa el nivel de glucosa en sangre, lo que resulta en una mayor demanda y secreción de insulina, elevando de esta manera sus niveles (Scazzina *et al.*, 2013).

#### II.2. Enfermedad celíaca

La enfermedad celiaca (EC) es una enteropatía autoinmune que afecta el intestino delgado causando el aplanamiento de sus vellosidades, teniendo como consecuencia la disminución en la absorción de nutrientes, contribuyendo a la desnutrición, deficiencias en vitaminas y minerales, además de problemas gastrointestinales como malestar abdominal, hinchazón, diarrea, náuseas, etc. Este padecimiento afecta principalmente a individuos genéticamente susceptibles, por la exposición al gluten. El gluten es un complejo de proteínas que se encuentran principalmente en cereales como el trigo, centeno y cebada (Sharma *et al.*, 2020). En la Figura 1 se muestra un corte de una biopsia yeyunal y se puede ver el aplanamiento de las vellosidades de la mucosa.



**Figura 1**. Muestra de biopsia yeyunal. A. Mucosa alterada muestra atrofia y aplanamiento de las vellosidades. B. Mucosa normal (Decher *et al.*, 2013)

Se ha estimado que la prevalencia de la EC es de 0.7 % a 1.4 % (Therrien *et al.*, 2020). En África y América del Norte la prevalencia es de 0.5 %, en el Sur de América del 0.4 %, Asia 0.6 % y Europa 0.8 %. La EC varía dependiendo del sexo, edad y la presencia de otras enfermedades autoinmunes (Glissen y Singh, 2019; Sharma *et al.*, 2020).

En México, se ha reportado que el 0.9 % de la población puede tener enfermedad celiaca, por lo que se estima que entre 800,000 y 1,000,000 de personas tienen este padecimiento y pudieran beneficiarse de una dieta libre de gluten (Cobos-Quevedo *et al.*, 2017). La sensibilidad al gluten sin enfermedad celiaca es más frecuente y se estima que entre 10 y 25 % de la población pudiera tener síntomas relacionados con la ingesta de gluten. Este padecimiento se refiere a los síntomas inespecíficos, sin la respuesta inmunitaria representativa de la enfermedad celiaca, ni tampoco las lesiones intestinales (Pietzak, 2012; Catassi *et al.*, 2014; Fasano *et al.*, 2015).

Cuando este padecimiento no lleva un tratamiento nutricional, con el tiempo lesiona la mucosa intestinal llegando al punto de comprometer las funciones secretoras, digestivas y absortivas normales, pudiendo llegar a una mala absorción de macro y micronutrientes. Se ha informado que la cantidad mínima de gluten para inducir los síntomas en una persona con enfermedad celiaca, es mayor a 50 mg de gluten/día (Catassi *et al.*, 2007). El tratamiento nutricional de esta enfermedad es evitar el gluten, omitiendo trigo, centeno y cebada. Puede incluirse en la dieta cereales como: amaranto, maíz, papas, arroz y leguminosas como habas y frijol (Ashraf *et al.*, 2021).

En las personas con enfermedad celiaca, el pan que contiene gluten causa problemas nutricionales como: pérdida de peso, desnutrición, anemia, malestar estomacal, etc. (Kourkouta *et al.*, 2017), es por esto que se les ha dado una mayor importancia a los productos libres de gluten. Sin embargo, se han presentado problemas en la formulación de pan libre de gluten ya que no se presenta la textura, sabor y el adecuado aporte nutricional (Melini *et al.*, 2017).

Se ha tenido el interés por utilizar harinas a base de leguminosas para la elaboración de pan libre de gluten, debido a su fuente de compuestos bioactivos, además de ser un ingrediente de bajo índice glucémico. Se ha reportado la utilización de diferentes tipos de harinas a base de leguminosas como: garbanzo y lentejas (Melini et al., 2017), así como la fortificación en harinas a base de algún cereal para incrementar sus niveles de proteína (Pinto et al., 2016). La harina de frijol puede utilizarse para realizar productos de panadería, esto gracias al aporte de fibra dietaria y el contenido de almidón resistente, modificando volumen, elasticidad, firmeza y suavidad de las migas de pan (Luzardo-Ocampo et al., 2018).

#### II.3. Frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

#### II.3.1 Generalidades

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas más importantes y consumidas en las poblaciones de América Latina y África, siendo a su vez uno de los alimentos básicos en México (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017). El sitio donde se originó y domesticó el frijol fue en Mesoamérica, y en el sur de México particularmente (Lépiz, 1974). México posee la mayor diversidad del género *Phaseolus*, dentro de los cuales, el frijol común es el de mayor importancia agronómica y económica (SAGARPA, 2017a) el cual es una fuente importante de macronutrientes, fibra dietética, almidón, minerales y metabolitos secundarios (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017).

#### II.3.2 Consumo de frijol en México

Durante mucho tiempo el consumo de frijol ha sido una parte fundamental en la dieta de los mexicanos; sin embargo, desde los años 70s, su consumo ha ido disminuyendo, de 18.45 kg consumo per cápita a 9.9 kg en 2016, aunado a que la producción nacional de 1.08 millones de toneladas solo cubre el 89.24 % del consumo nacional (Rodríguez-Licea *et al.*, 2010; SAGARPA, 2017a). La disminución en su consumo se atribuye a los cambios de estilo de vida, en los cuales se prefiere la comida rápida por la falta de tiempo y la fácil accesibilidad a este tipo de comida (Muñoz, 2010). Se ha reportado que las variedades de frijol con un mayor consumo en México son el bayo, pinto, negro y peruano (Loarca *et al.*, 2018). En un estudio realizado por Rodríguez-Licea et al. (2010) sobre la preferencia del consumo del frijol común en México, se reportó que el 77.2 % de consumidores de frijol en grano, el 35.8 % prefieren el frijol negro, 26.6 % claros como el peruano y flores de mayo y el 14.8 % prefieren pintos nacionales o importados. Por otra parte, el 22.8 % los prefieren industrializados en diferentes presentaciones.

#### II.3.3 Composición química y nutricional

El frijol común tiene gran importancia por su aportación de carbohidratos, siendo este el componente principal proporcionando alrededor del 55-65 %, en estos se incluye la fibra dietaria y almidón (Campos-Vega *et al.*, 2009). Se ha informado que el frijol es rico en fibra dietaria que comprende; celulosa, hemicelulosa, pectinas, oligosacáridos y ligninas, que resisten la digestión y la absorción en el intestino delgado, pero se fermentan parcial o completamente en el intestino grueso (Costa *et al.*, 2006). Así mismo, el almidón es uno de los carbohidratos más abundantes en la semilla del frijol y se deposita en gránulos parcialmente cristalinos, teniendo una variación en su estructura dependiendo de la especie. Los almidones de las leguminosas, tienen una digestión lenta y se fermentan en el intestino grueso para producir ácidos grasos de cadena corta, con ben eficios para la salud. Se ha reportado el contenido de almidón total en las variedades Negro 8025 y Pinto Durango, que es de 88.56-95.28 %. Los valores de amilosa presente en el almidón del frijol son de 23.20-28.06 % (Ovando-Martínez *et al.*, 2011).

Del mismo modo, es una de las leguminosas más conocidas por su alto contenido de proteínas que varía entre 14-28 %, teniendo presentes sus aminoácidos lisina, fenilalanina y tirosina, pero con deficiencias en aminoácidos azufrados; metionina y cisteína. De acuerdo a evaluaciones biológicas, la calidad de la proteína del frijol ya cocido puede ser hasta del 70 %, en comparación con una proteína de origen animal la que puede ser del 100 %. Por otra parte, la proporción de lípidos es menor en comparación con las otras macromoléculas, constituyendo del 1 al 3 % (Hall *et al.*, 2017).

En relación con vitaminas y minerales, los que se presentan en la semilla de frijol común son Fe (40.58 mg / kg), Mn (16.47 mg / kg), Zn (27.58 mg / kg), Cu (8.12 mg / kg) (Grela *et al.*, 2017). Asimismo, también son fuente de Se, P, K, Mg y Ca. Solo una taza de frijoles proporciona 25-30 % de la dosis diaria recomendada de Fe,

25 % de Mg y Cu y 15 % de K y Zn (Priya y Manickavasagan, 2020). Dentro de las vitaminas, las principales son las del complejo B (tiamina, riboflavina, niacina y ácido fólico) y la vitamina E (Mecha *et al.*, 2018).

#### II.3.4 Compuestos bioactivos

Un alimento nutracéutico es aquel que sus componentes proporcionan un beneficio para la salud, además de su nutrición básica (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017). El frijol común tiene una gran cantidad de beneficios como alimento nutracéutico, atribuido a su contenido de compuestos bioactivos: compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides), fibra dietaria, almidón resistente y saponinas (Loarca *et al.*, 2018). También es importante su capacidad antioxidante; reduciendo el riesgo de padecer hipertensión arterial, hipercolesterolemia, diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares y cáncer (Campos-Vega *et al.*, 2010; Ramírez- Jiménez *et al.*, 2015).

#### II.3.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de la planta, siendo responsables de color y características sensoriales de plantas y alimentos (Peñarrieta *et al.*, 2014), tienen propiedades antioxidantes con capacidad de neutralizar los radicales libres y quelación de los metales de transición, por lo que contrarrestan el inicio y la propagación de los procesos oxidativos (Huber *et al.*, 2016). Respecto a su estructura química, son un grupo muy diverso que abarca desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como los taninos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Dentro de los ácidos fenólicos, el ácido ferúlico es el más abundante en el frijol común (Luthria y Pastor-Corrales, 2006), estando presente en el frijol crudo (17.0–36.0 μg/g) y en el frijol cocido (11.9–27.9 μg/g). Con respecto a su actividad biológica, el ácido ferúlico tiene un gran papel como antioxidante, antiinflamatorio e

inmunoestimulante (Chávez-Méndez y Sánchez, 2017). En la Figura 2 se presenta su estructura.

**Figura 2**. Estructura química del ácido ferúlico (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017)

Los flavonoides consisten en dos anillos aromáticos que están unidos por 3 carbonos, formando un heterociclo oxigenado (Figura 3). Se pueden clasificar en flavonoles, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas y flavanoles. Los principales flavonoides presentes en frijoles crudos y cocidos son catequina, kaempferol, quercetina, miricetina y procianidinas (Xu y Chang, 2009). Este grupo de compuestos se pueden encontrar en la cubierta de la semilla del frijol (Akillioglu y Karakaya, 2010).

Figura 3. Estructura molecular de los principales flavonoides presentes en frijol común

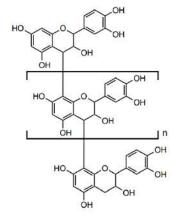
(Shahidi y Naczk, 2004)

Díaz-Batalla et al. (2006) cuantificaron el contenido seco de quercetina en la semilla de frijol crudo que fue de 6.9 a 23.5  $\mu$ g/g y hasta un 12  $\mu$ g/g en la semilla cocida. A su vez, el peso seco de kaempferol en semillas de frijol crudo varió de 13.8 a 209.4  $\mu$ g/g y de un 7.1 a 123.2  $\mu$ g/g en semillas de frijol cocido.

La actividad biológica de los compuestos fenólicos depende del tipo de constituyentes fitoquímicos y de su estructura. Se ha informado que tienen un efecto beneficioso contra cáncer de pulmón y riesgo de enfermedades cardiovasculares, atribuyéndose a la inhibición en la proliferación celular, además de su capacidad antioxidante. La quercetina es uno de los flavonoides con más propiedades biológicas entre las que destacan: capacidad anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral y disminución de los niveles de colesterol total (Chávez-Méndez y Sánchez, 2017).

Por otro lado, los taninos son compuestos fenólicos que se pueden definir como hidrolizables y condensados, dependiendo de su estructura. Los taninos condensados son polímeros de flavonoides y están compuestos por unidades de flavan-3-ol, mientras que los taninos hidrolizables se clasifican en base a su monómero, como el ácido gálico (Ferreira y Lí, 2000). Los taninos condensados se consideran compuestos antinutrientes debido a que son difíciles de hidrolizar, dando como resultado precipitación de proteínas y complejos de hierro en la luz gastrointestinal, reduciendo así la absorción y digestibilidad de nutrientes. Sin embargo, se consideran nutricionalmente importantes por su papel como antioxidantes y potencial anticancerígeno (Brune et al., 1989; Olivas-Aguirre et al., 2015).

En la Figura 4 se representa la estructura de un tanino condensado.



**Figura 4.** Estructura molecular de taninos condensados (Shahidi y Naczk, 2004)

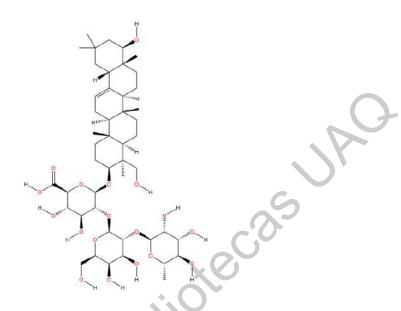
#### II.3.4.2 Saponinas

Las saponinas son sustancias con la peculiaridad de tener una aglicona esteroidal en su estructura o bien un triterpenoide que incluyen cadenas de azúcar (Ramírez-Jiménez *et al.*, 2015). Se pueden encontrar como glucósidos esteroidales, glucósidos alcaloides o como glucósidos triterpénicos (Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Este grupo de compuestos bioactivos se clasifican en grupos A, B o E, en función de sus estructuras de agliconas. Las saponinas del grupo A poseen grupos glucosilo unidos a las posiciones C-3 y C-22 de la aglicona, mientras que las que pertenecen a los grupos B y E están glucosiladas solo en la posición C-3. Las saponinas del Grupo E contienen una cetona en C-22 en lugar de un grupo hidroxilo que se encuentra en sus homólogos del Grupo B (Guajardo-Flores *et al.*, 2012).

Las saponinas no se absorben en el intestino, por lo que afecta la absorción de algunos minerales como zinc y hierro. Sin embargo, en diferentes investigaciones se han encontrado beneficios para la salud humana, teniendo efectos hipocolesterolémicos, hipoglucemiantes, inmunoestimulantes, anticancerígenos y antiinflamatorios, entre otros (Shi *et al.*, 2004; Elizalde *et al.*, 2009). Un estudio realizado por Lee et al. (2005) reportó los niveles de colesterol en plasma de hámsters, los cuales fueron alimentados con soyasaponinas B. Concluyeron que este grupo de saponinas redujeron los niveles de colesterol total en plasma y los niveles de colesterol no HDL mediante un mecanismo que implica excreción de ácidos biliares fecales y esteroles neutros.

Se ha reportado que la soyasaponina A y la soyasaponina I que pertenece a las soyasaponina B, están presentes en el frijol común, específicamente en el cotiledón y en la cáscara de la semilla (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017). El contenido de saponinas se ha estudiado particularmente el frijol negro, el cual en la variedad "Negro San Luis" es de 42.28 mg/100 g (Guajardo-Flores *et al.*, 2012). En la Figura 5 se muestra la estructura de la soyasaponina presente en frijol común.



**Figura 5.** Estructura de soyasaponina I presente en frijol común (Chávez-Mendoza y Sánchez, 2017)

#### II.3.4.3 Fibra Dietaria

La fibra dietética se puede clasificar en soluble y no soluble. La fibra soluble incluye oligosacáridos, pectinas, β-glicanos, gomas de galactomanano; mientras que la no soluble consiste principalmente en celulosa, hemicelulosa y lignina. El consumo de la fibra dietaria ha demostrado efectos beneficiosos para la salud, principalmente por la disminución del colesterol en sangre, así como la disminución de la absorción intestinal de la glucosa (Perry y Ying, 2016).

La fibra soluble puede llegar al colon y ser fermentada por las bacterias intestinales, metabolizando los oligosacáridos en ácidos grasos de cadena corta de importancia biológica como: ácido acético, propiónico y butírico; a los que se les ha reportado como metabolitos con propiedades biológicas: el ácido butírico es la principal fuente de energía para células del epitelio intestinal, el ácido acético disminuye el pH del colon, estimulando la reabsorción de agua y sodio, además de potenciar la absorción de cationes divalentes. Por otra parte, el ácido propiónico disminuye la síntesis hepática del colesterol, debido a la inhibición en la actividad de

la hidroximetilglutaril coenzima A, enzima importante en la síntesis del colesterol (Peris *et al.*, 2002).

En el frijol común, la proporción de fibra dietaría varía de 14 a 19 g por cada 100 g de la leguminosa cruda (Ulloa *et al.*, 2011). Campos-Vega et al. (2009) determinaron la proporción de la fibra en el frijol cocido, la cual tuvo una variación del 31 % - 41 % de fibra insoluble, mientras que en la soluble la cantidad encontrada fue de 5.5 %-14 %.

#### II.3.4.4 Almidón resistente

El almidón resistente comprende almidón y sus derivados de degradación que no pueden ser digeridos en el intestino delgado, pasando al colon para ser fermentado por la microbiota, produciendo ácidos de cadena corta como: acetato, propionato y butirato, teniendo un beneficio en la salud del colon. Del mismo modo, ayuda a mantener niveles estables de glucosa en sangre debido a su lenta digestión (Birt *et al.*, 2013).

La resistencia a la digestión se atribuye principalmente a su estructura física, delimitada por una cantidad más alta de amilosa en relación a la amilopectina, que permite formar una estructura más compacta que es menos susceptible a hidrólisis enzimática (Lehmann y Robin, 2007). De la misma manera, la resistencia se debe al tamaño y tipo de gránulo, donde el aumento en la densidad de ramas del almidón y la estructura cristalina contribuyen a su propiedad de digestión lenta (Ao *et al.*, 2007).

Las leguminosas contienen mayor cantidad de almidón resistente en comparación con cereales y tubérculos. Por ejemplo, los frijoles contienen grandes cantidades de almidón resistente, teniendo una alta relación amilosa / amilopectina. Ovando-Martínez et al. (2011) reportaron los valores de almidón resistente en dos variedades de frijol: "Negro 8025" y "Pinto Durango" de dos localidades de México, obtenidos por digestión *in vitro*. El almidón resistente de los frijoles sin cocción fue de 61.55-74.89 %.

#### II.3.5 Factores antinutricionales

#### II.3.5.1 Lectinas y enzimas inhibidoras

Las lectinas son un grupo de proteínas que comprenden fitohemaglutinina lectina, arcelina relacionada con lectina y el inhibidor de α-amilasa. Estas lectinas poseen una gran variedad de actividades biológicas que incluyen aglutinación celular, mitosis, toxicidad e inhibición del crecimiento celular. Las lectinas en las leguminosas pueden reducir la digestibilidad y el valor biológico de las proteínas provenientes de la dieta (Balint, 2000; Grant *et al.*, 2000). Se ha informado que las lectinas son sensibles al calor, por lo tanto, si se aplica un proceso tecnológico adecuado pueden llegar a inactivarse. El contenido de lectina en la semilla de las leguminosas varía dependiendo de su contenido de proteína, por ejemplo, en el frijol común es del 2.4-5 % (Gautam *et al.*, 2018).

Los inhibidores de la proteasa, los inhibidores de tripsina y el ácido fítico son compuestos considerados antinutrientes. Los inhibidores de proteasa aislados de leguminosas se clasifican en función de su peso molecular y contenido de cistina y se denominan como Kunitz y Bowman-Birk. Los de tipo Kunitz tienen masa molecular de 20 kDa con dos puentes disolfuros, actuando específicamente contra la tripsina. Los de tipo Bowman-Birk tienen una masa de 8-10 kDa y tienen 7 puentes disulfuro e inhiben la tripsina y quimotripsina simultáneamente en sitios de unión independiente. En el frijol común los inhibidores de proteasa se caracterizan por los de tipo Bowman-Birk. Se ha demostrado que estos compuestos no tienen un efecto negativo en la salud humana cuando su actividad disminuye con la cocción o el procesamiento al igual que las lectinas. Por otra parte, el ácido fítico se considera antinutriente debido a que se une a minerales y proteínas, disminuyendo su biodisponibilidad (Díaz-Batalla *et al.*, 2006; Campos-Vega *et al.*, 2010; Messina, 2014).

#### II.4. Maíz (Zea mays L.)

#### II.4.1 Generalidades

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cereales más importantes del mundo, en donde el género *Zea* pertenece a la familia Poaceae. Los datos de investigación sugieren que el maíz surgió en las tierras altas del sur de México y Guatemala desde hace 7,000 a 10,000 años, y se fue difundiendo a diferentes partes del mundo incluyendo América, Europa, África y Asía. En México es el principal cereal desde el punto de vista alimentario ya que se destina al consumo de los humanos y del ganado, además de ser importante en la industria, debido a la fabricación de diferentes productos, mayormente utilizados en la industria de alimentos (Hossain, *et al.*, 2016).

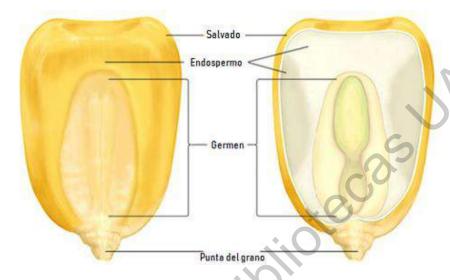
#### II.4.2. Consumo de maíz en México

La producción de maíz blanco representa el 86.94 % y se destina principalmente al consumo humano, teniendo un consumo per cápita al año de 196.4 kg (SAGARPA, 2017b). El cultivo de maíz en el país se caracteriza por la producción de distintos productos finales como tortillas, forrajes para animales, aislamiento de almidón, harinas nixtamalizadas, etc. (Sinibaldi y Bressani, 2001). Sin embargo, el principal consumo de este cereal es como tortilla, llegando a consumo de 70 kg per cápita (Salinas et al., 2010). Cada año el maíz representa la mitad del volumen total de alimentos que son consumidos por los mexicanos, proporcionando a la población alrededor de la mitad de las calorías requeridas en su día (Massieu y Lechuga, 2002).

### II.4.3. Composición química y nutricional

El grano del maíz está constituido por 3 partes diferentes como se muestra en la Figura 6; endospermo es donde se encuentra principalmente el almidón, germen que es la fracción en donde se encuentra mayormente la proteína, y el salvado en

donde se encuentran presentes polisacáridos no relacionados con el almidón como celulosa y hemicelulosa (Ai y Jane, 2016).



**Figura 6.** Grano de maíz entero (Ai y Jane 2016)

Los carbohidratos constituyen el principal componente del maíz, siendo el almidón el componente predominante, representando cerca del 78 %. Los gránulos de almidón están compuestos de una fracción de amilopectina que consta del 70-75 % del almidón del maíz, mientras que la amilosa constituye un 25-30 %. Asimismo, tiene una composición de azúcares de un 1-3 % (Ptaszek *et al.*, 2009; Ai y Jane, 2016).

Los resultados de almidón total reportados por Méndez-Montealvo et al. (2005) en variedades de maíz cultivadas en México fue de 69.1-86 %, correspondiendo al 55.3-70.4 % de almidón disponible. Por otra parte, el almidón resistente se encuentra entre el 1.1-2.9 %, el cual no es digerido y sigue hacia el intestino grueso donde es fermentado por la microbiota.

La fibra dietética se conoce como polisacáridos que no están relacionados con almidón y son resistentes a la absorción y digestión en el intestino delgado de los humanos, pero pueden llegar al colon donde puede ser completa o parcialmente fermentada (Arendt y Zannini, 2013). Se ha reportado que el maíz tiene un contenido de fibra de 2.15 g por cada 100 g según Shah et al. (2015). El salvado de maíz, así como la cubierta de la semilla contienen del 73 al 86 % de fibra total (Rose *et al.*, 2010).

Las proteínas son el siguiente componente mayoritario del grano de maíz. Se ha reportado que el aporte de proteínas es de 8.3-11.3 %, sin embargo, el maíz es deficiente en lisina y triptófano. La proteína se encuentra principalmente en el germen y el endospermo, siendo de mayor calidad en el germen. Las proteínas presentes en el endospermo se componen de prolaminas denominadas zeínas representando el 52 % de nitrógeno del grano, así como albuminas y globulinas (Arendt y Zannini, 2013).

En relación a la composición de lípidos, se sabe que se encuentra entre 4-7 % (Méndez- Montealvo *et al.*, 2005). Estos compuestos lipídicos se encuentran principalmente en el germen y la capa de la aleurona (Ullah *et al.*, 2010; Length, 2014). El contenido de lípidos en el germen es del 39-47 %, en su mayoría triglicéridos con pequeñas cantidades de glucolípidos y fosfolípidos. Los lípidos de la aleurona son mayormente triglicéridos con algunos ácidos grasos libres (Arendt y Zannini, 2013).

En el Cuadro 1 se muestran los aportes de los diferentes macro y micronutrientes presentes en el maíz por cada 100 gramos de porción.

Cuadro 1. Aporte de nutrimentos en el maíz (g/100 g).

•	(0	Ο,
Carbohidratos	71.88 g	
Proteína	8.84 g	
Lípidos	4.57 g	

Fibra	2.15 g
Ceniza	2.33 g
Humedad	10.23 g
Fosforo	348 mg
Sodio	15.9 mg
Azufre	114 mg
Riboflavina	0.10mg
Tiamina	0.42 mg
Vitamina C	0.12 mg
Magnesio	139 mg
Cobre	0.14 mg
Calcio	10 mg
Hierro	2.3 mg
Potasio	286 mg
	<del> </del>

(Shah, Prasad y Kumar 2015)

El contenido de vitaminas en el grano de maíz consta de vitaminas hidrosolubles: tiamina (vitamina B1) y piridoxina (Vitamina B6) y de las vitaminas liposolubles: vitamina A y vitamina E, encontrándose en el germen y endospermo, mientras que las vitaminas hidrosolubles, se hallan en la capa de la aleurona del grano de maíz, y en menor cantidad en el germen y el endospermo. El maíz tiene un alto aporte de niacina si se compara con la ingesta requerida, sin embargo, no está de forma disponible para ser asimilado por el cuerpo humando, a pesar de ello, existen técnicas que hidrolizan la niacina permitiendo su asimilación. Vitaminas como la colina, ácido fólico y ácido pantoténico se hallan en bajas concentraciones (Paredes-López *et al.*, 2009; Arendt y Zannini, 2013).

El contenido de minerales representa alrededor del 1-1.3 %. Uno de los minerales predominantes en el maíz es el fósforo en forma de fitato de potasio y magnesio, así como el azufre que está contenido en forma orgánica como parte de los aminoácidos metionina y cisteína, en cambio, es deficiente en calcio (0.03 % en

base seca), hierro (30 µg/g) y zinc. Dependiendo de la variedad del grano y los factores ambientales será la concentración de minerales, teniendo impacto en su contenido. El 78 % de los minerales se encuentra en el germen del grano (Paredes-López, *et al.*, 2009; Arendt y Zannini, 2013).

#### II.4.4 Compuestos bioactivos

Estos componentes se encuentran en pequeñas cantidades en productos de origen vegetal (Olmedilla y Granado, 2008). El maíz es una fuente de varios fitoquímicos como carotenoides, compuestos fenólicos y fitoesteroles (López-Martínez *et al.*, 2009).

#### II.4.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se clasifican de acuerdo con sus propiedades químicas y su actividad biológica, teniendo una importancia nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud debido a las propiedades antioxidantes que contrarresta los radicales libres responsables de causar la oxidación de membranas y daño al ADN lo que trae enfermedades como cáncer, problemas cardiovasculares y envejecimiento (Rao y Agarwal, 2000; Serna-Saldivar, 2013).

Unos de los compuestos fenólicos más importantes del maíz son el ácido ferúlico y las antocianinas. El ácido ferúlico es el mayor compuesto fenólico presente en el maíz, pudiéndose encontrar de forma ligada, libre y condensada. Se ha reportado la cantidad de ácido ferúlico presente en maíz criollo blanco que fue de 495, 756 y 119 201 (µg/100 g) de forma ligada, conjugado y libre respectivamente. Estos componentes previenen el estrés oxidativo, cáncer y colesterol alto (Serna-Saldívar et al., 2013).

Los maíces pigmentados como el azul o morado son los contienen mayor cantidad de antocianinas con una excelente capacidad antioxidante, además de tener actividad antimicrobiana. La acción antioxidante de las antocianinas se atribuye a la presencia de los grupos hidroxilos en la posición 3 del anillo C y en las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B (Zhao *et al.*, 2009). En un estudio realizado en ratones por Tsuda et al. (2003) concluyeron que una dieta hiperlipidémica rica en antocianinas produjo una menor ganancia de peso y redujo la aparición de hiperglicemia, resistencia a la insulina e hiperleptinemia, en comparación con una dieta sin antocianinas.

Una de las principales antocianinas presentes en el maíz es cianidina-3-glucósido, mostrada en la Figura 7.

**Figura 7.** Cianidina-3-glucósido, antocianina presente en maíz. (Salinas *et al.*, 2013)

El contenido de antocianinas reportado por Guzmán-Maldonado et al. (2015) en diferentes tipos de maíces nativos en el norte de El Bajío fue de 86.9-575 mg equivalentes de ácido gálico/100 g. Estos compuestos se encuentran en la capa de la aleurona o pericarpio del endospermo de maíz (Betrán *et al.*, 2000).

#### II.4.4.2 Carotenoides

Los carotenoides se hallan en organelos subcelulares, cloroplastos y cromoplastos, sirven como pigmentos asociados a la fotosíntesis. Los carotenos y las

xantofilas son dos tipos de pigmentos que dan el color amarillo y naranja al endospermo del maíz (De la Parra *et al.*, 2007). El α-caroteno y β-carotenos son los principales carotenos teniendo una alta capacidad antioxidante, mientras que la β - criptoxantina, la luteína y la zeaxantina constituyen la mayoría de las xantofilas (Žilic *et al.*, 2012). Se ha reportado que una alta concentración de β-carotenos induce apoptosis de las células de distintos tipos de cáncer (Palozza *et al.*, 2001; Jang *et al.*, 2009). Por otro lado, las xantofilas mejoran la proliferación de linfocitos disminuyendo la incidencia de tumores, así mismo, protege las células de daños oxidativos (Shah *et al*, 2016). El grano de maíz contiene de 0.1 a 77 mg de carotenos totales/kg, mientras que maíz amarillo contiene 30 mg/kg (Serna-Saldívar *et al.*, 2013).

#### II.4.4.3 Fitoesteroles

Los fitoesteroles están presentes de manera natural en frutos secos, cereales, leguminosas, aceites vegetales, etc. En el grano del maíz se distribuyen por distintas fracciones como endospermo, pericarpio y el germen (Harrabi *et al.,* 2008). Se dividen en función a su número de grupos metilos en la posición C-4; esteroles simples o 4-desmetilesteroles, 4, 4-dimetilsteroles y 4-monometilsteroles. Entre los desmetilesteroles, los más consumidos del aceite de maíz son el sitosterol, estigmasterol y campesterol (Shah *et al.*, 2016). Se diferencian del colesterol ya que en su estructura tienen un grupo metilo en el carbono 24 (Ostlund, 2002).

En los últimos años los esteroles vegetales tienen una importancia como alimento funcional ya que funge como tratamiento para la hipercolesterolemia (López *et al.*, 2016) debido a que inhibe la absorción del colesterol en las células epiteliales del intestino, previniendo enfermedades cardiovasculares. El contenido de fitoesteroles reportado por Muñoz et al. (2011) en el maíz es de 178 mg/100 g.

#### II.4.4.4 Almidón resistente

Se le denomina almidón resistente a la parte del almidón que no es digerible y sigue al intestino grueso donde es fermentado por las bacterias del colon, aumentando la producción de ácidos grasos de cadena corta como: acético, propiónico y butírico con propiedades biológicas entre las que destacan: fuente de energía para células del epitelio intestinal, disminución de la síntesis hepática de colesterol. Este tipo de almidón se asocia a una disminución del índice glucémico debido a que su tiempo de digestión es mayor, aproximadamente de 5 a 7 horas después de su consumo, en comparación con almidón cocido que es digerido rápidamente, es por ello que tiene la capacidad de reducir la glucosa en sangre postprandial, además que aumenta el tiempo de saciedad (Sajilata *et al.*, 2006). Una alta concentración de almidón resistente puede beneficiar la elaboración de productos a base de maíz, por ejemplo: tortillas, pan, cereales para el desayuno, pasteles, etc., que contengan un bajo contenido calórico (Méndez-Montealvo *et al.*, 2005). El contenido de almidón resistente en variedades de maíz cultivadas en México reportado por Méndez-Montalvo et al. (2005) fue de 1.1-2.9 %.

#### II.5. Tecnologías emergentes aplicadas en harinas

#### II.5.1 Extrusión

La extrusión es una tecnología que consiste en un proceso de forzar a un material a fluir bajo distintas condiciones a través de un orificio conformado (matriz) a una velocidad predeterminada para lograr diversos productos. Durante la extrusión, se aplican energías térmicas a las materias primas alimenticias, dando como resultado cambios estructurales, químicos y nutricionales, por ejemplo, la degradación de compuestos anti nutricios, así como aumento en biodisponibilidad de algunos nutrientes (Alam *et al.*, 2016).

La temperatura alcanzada por los alimentos durante la extrusión puede llegar hasta 200 °C en un tiempo corto (5-10 s), de esta manera minimiza la inactivación de

vitaminas, aminoácidos y la caramelización (Harper, 2019). Un extrusor consta de uno o dos tornillos que giran en un barril cilíndrico, el cual está equipado con un alimentador en el extremo de entrada y una boquilla en el extremo de descarga (Figura 8). Según los intereses del fabricante se utilizan extrusores de uno o dos tornillos. El extrusor de tornillo simple es un método de cocción recomendado para productos como harinas, debido a su bajo costo y la transformación a tiempos cortos (Leonard *et al.*, 2020).

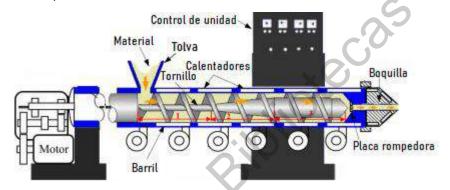


Figura 8. Extrusor de un tornillo (Abeykoon, 2016)

Este tipo de tecnología es utilizada en productos como cereales, snacks, bases para bebidas, pasta, proteína vegetal texturizada, galletas, artículos de confitería, sopas secas, etc. (Alam *et al.*, 2016). Contreras-Jiménez et al. (2014) evaluaron el efecto de las condiciones del proceso de extrusión a bajas temperaturas sobre las propiedades funcionales de harinas de maíz, teniendo como resultado que a una temperatura de 75 °C y 45 % de humedad se obtienen propiedades funcionales semejantes a la harina de maíz nixtamalizada.

# II.5.2 Calentamiento óhmico

El calentamiento óhmico es una tecnología que se basa en el efecto Joule, consiste en la generación de calor por una corriente alterna que pasa a través de un

material conductor de resistencia, con el resultado de que la generación de energía provoca un aumento en la temperatura interna del material (Sakr y Liu, 2014).

Para el diseño de un sistema de calentamiento óhmico se necesita un generador para producir electricidad y al menos dos o más electrodos (Figura 9). Los

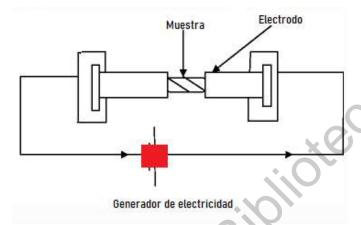


Figura 9. Diagrama del proceso de calentamiento óhmico

electrodos conectados al generador deben estar en contacto físico con el material para que pase la corriente eléctrica a través de ellos. La distancia entre electrodos en el sistema puede cambiar dependiendo del tamaño del sistema, pero al cambiar esta distancia, la intensidad del campo eléctrico expresada en voltios por centímetros (V/cm) pude variar (Varghese et al., 2014).

(Varghese et al., 2014)

Para aplicar este calentamiento en los alimentos debe considerarse; cantidad de agua y iones, forma y tamaño de la partícula, viscosidad del alimento, etc. (Camargo et al., 2010). Alguna de las aplicaciones de esta tecnología en la industria de alimentos son la pasteurización, esterilización, descongelación, fermentación, deshidratación, entre otros. Se han reportado distintas ventajas de utilizar calentamiento óhmico, entre las cuales se encuentran; lograr un calentamiento uniforme evitando la degradación de los compuestos termosensibles, menor tiempo de cocción, además de ser una tecnología amigable con el ambiente (Varghese et al., 2014; Goullieux y Pain, 2014).

protein, por lo que e .nas. Gaytán-Martínez et al. (2012) reportaron en harinas de maíz nixtamalizadas utilizando el calentamiento óhmico, un mayor contenido de proteína y fibra,

## III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se ha incrementado la elaboración de productos libres de gluten debido al aumento de las afecciones asociadas con la ingesta del gluten, como lo es la enfermedad celiaca y la sensibilidad al gluten, que dañan al intestino delgado causando problemas gastrointestinales. Del mismo modo, la dieta del mexicano ha ido cambiando, aumentando el consumo de alimentos con alto valor energético como: bebidas azucaradas, cereales dulces, botanas con bajo aporte nutricional, etc., atribuyéndose a que cada vez se dispone de menor tiempo para preparar alimentos y que son de acceso rápido. A pesar del cambio en la dieta, el pan de caja es un alimento que se sigue consumiendo habitualmente, teniendo un consumo de 33 kg per cápita anual de acuerdo con la Cámara Nacional de la Industria Panificadora (CANAINPA), encontrándose dentro de la canasta básica del país.

Por otra parte, el consumo de frijol y maíz ha ido en declive, desaprovechando las aportaciones nutricionales que pueden ayudar a disminuir los padecimientos por problemas actuales de nutrición como la obesidad, sobrepeso y enfermedades crónicas no transmisibles (cáncer, diabetes, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, etc.)

Por lo anterior, se presenta la propuesta de desarrollar un pan de caja a base de frijol común y maíz, ya que el pan es un alimento con un gran consumo en la población. Además, con la sinergia de la leguminosa y el cereal se quiere obtener un alimento de calidad nutricional y con propiedades nutraceúticas, y que tenga un beneficio en la alimentación de sus consumidores, particularmente a los sensibles al gluten o que presentan enfermedad celiaca.

#### IV. OBJETIVOS

### IV. 1 Objetivo general

Desarrollar y caracterizar de forma química y nutracéutica un pan de caja a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.).

# IV.2 Objetivos específicos

- 1. Realizar caracterización química y nutracéutica a la harina de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.).
- 2. Formular un pan de caja a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.).
- 3. Evaluar las propiedades de textura y las características de calidad microbiológicas al pan de caja a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.).
- 4. Evaluar propiedades químicas y nutracéuticas al pan de caja de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.).

# V. MATERIALES Y MÉTODOS

#### V.1. Materiales

#### V.1.1 Reactivos

Los reactivos de uso general fueron adquiridos en Sigma-Aldrich o en JT Baker: acetonitrilo, ácido acético, sulfato de sodio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ácido clorhídrico (HCI), ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) rojo de metilo, verde de bromocresol, etanol, éter de petróleo, Folin-Ciocalteu, hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH) metanol, α-amilasa, tripsina, quimotripsina, peptidasa, proteasa, amiloglucosidasa, sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>), persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) agua destilada, agua grado HPLC, (±)-catequina, ácido gálico, vainillina, rutina, trolox, 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), N-α-benzoyl-arginine-p-nitroanilide (BAPNA).

#### V.1.2 Materia Prima

Como materia prima se utilizó la variedad Bayo Madero de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.). Para la elaboración de las harinas se seleccionaron los granos de maíz y frijol eliminando los que presenten malformaciones, basura o cualquier tipo de contaminación.

# V.1.2.1 Harina de frijol y maíz

Se evaluaron 2 métodos de cocción usando las tecnologías de calentamiento óhmico y extrusión para las harinas de frijol y maíz, seleccionando la más adecuada para el procesamiento del pan.

Para la extrusión del frijol se siguió la metodología descrita por Sánchez-Quezada (2018). Los granos de frijol se sometieron a remojo por 14 horas a 1:3 (v/v) con agua destilada a 80 ° C. Pasado el tiempo se eliminó el agua de remojo y se pasó al extrusor de tornillo simple con una relación de 1:1, con diámetro de 1 pulgada acoplado a un dado con orificio de 5 mm. Se utilizó una temperatura de 120 °C a 10 rpm. Posteriormente, se llevó a un proceso de secado de 41 °C por 2 horas en un horno. Finalmente, se molió en un molino de café y se pasó por una malla # 60.

La harina de maíz nixtamalizada por el método de extrusión se obtuvo según lo descrito por Peñaloza-Jiménez (2017). El maíz fue molido al cual se le adicionó agua 1:2 (v/v) y el 0.5 % de cal. Posteriormente, se pasó a extrudir en un extrusor de tornillo simple, con un diámetro de 1 pulgada usando una temperatura de precalentamiento de 60° C y una temperatura de calentamiento de 80° C a 20 rpm. Finalizada la extrusión, las muestras se secaron por 24 horas a 50 °C y se molieron para ser pasadas por una malla #60.

La obtención de harina de frijol por calentamiento óhmico se realizó con base en lo propuesto por Lima-Becerra (2020). Se empleó una celda de Nylamide con electrodos de acero inoxidable, con una capacidad aproximada de 150 g con control de temperatura (patente: MX/a/2007/016261). Se realizó un acondicionamiento para procesar el frijol con un atemperado de 80° C por 14 horas de remojo con un volumen de 1:3, esto para obtener una humedad del 50%. Posteriormente, se hizo un triturado al frijol, se colocó en la celda y se calentó con una potencia de 70 V a 110 °C por 10 minutos. Las muestras obtenidas se secaron a 50°C por 48 horas. Finalmente, fue molido usando un molino de café y después se pasó por malla # 60. La harina se almacenó en bolsas de plástico en el refrigerador hasta su uso.

En el caso de harinas nixtamalizadas de maíz se siguió el método desarrollado por Ramírez-Jiménez *et al.* (2019), el grano se molió y se pasó por una malla #20. La molienda obtenida se mezclará con hidróxido de calcio al 0.3 % (p/p) y agua para alcanzar el 50 % de humedad. Posteriormente, se le aplicará calentamiento óhmico a la mezcla con 120 V a 85 °C por 5 minutos, dentro de una celda de Nylamide equipada con electrodos de acero inoxidable. La masa obtenida se secó en un homo

a 50 °C por 24 horas. Para finalizar, se pasó por un molino de café y después por malla # 60. La harina se almacenó en bolsas de plástico en el refrigerador hasta su uso.

Se hizo harina por un tratamiento tradicional, es decir cocción tradicional del frijol para hacer una comparación con las tecnologías de extrusión y calentamiento óhmico. Se siguió la metodología de (Aparicio-Fernández *et al.*, 2005). Se realizó el mismo pretratamiento con un atemperado de 80° C por 14 horas de remojo con un volumen de 1:3. Posteriormente, se llevó a cocción con agua hirviendo con una relación 1:4 frijol-agua. El tiempo de cocción fue 2.5 horas. Finalizado el tiempo se secó en un horno a 40° C por 15 horas y se molió usando un molino de café y después se pasó por malla # 60. La harina se almacen ó en bolsas de plástico en el refrigerador hasta su uso. Como harina de maíz por un tratamiento tradicional se utilizó la harina nixtamalizada marca MASECA.

#### V.2. Métodos

V.2.1 Parámetros fisicoquímicos de harinas

## V.2.1.1 Índice de absorción de agua

Para la determinación del índice de absorción de agua se usó la técnica propuesta por Ramírez-Jiménez et al. (2014). Se pesaron 5 g de muestra seca en un tubo Falcon de 50 ml el cual se debe tomar el peso inicial y se le agregaron 30 ml de agua destilada. Se agitó en vortex por 1 minuto y se centrifugó a 3000 g por 30 minutos a 25 °C. El sobrenadante se desechó y se drenaron los tubos sobre toallas de papel durante 10 minutos. Pasado el tiempo, se tomó el peso final del tubo. El resultado se expresa como gramos de agua retenida por gramo sólido seco (g de agua /g de muestra).

### V.2.1.2 Capacidad de absorción de aceite

La capacidad de absorción de aceite se determinó según Ramírez-Jiménez et al. (2014). Se pesó 1 g de harina y se le agregaron 10 ml de aceite vegetal en un tubo de Falcon de 50 ml previamente pesado. Se agitó durante 2 minutos y se dejó reposar por 30 minutos a 28 °C. Luego, se centrifugó a 15000 g durante 20 minutos. Se decantó y desechó el sobrenadante. Las gotas de aceite que se quedaron en las paredes del tubo se removieron con algodón y finalmente se pesó el tubo. El resultado se calcula y expresa como el peso de aceite absorbido por gramo de harina (ml de aceite /g muestra).

Capacidad de absorción de aceite

$$= \frac{\text{Peso tubo final} - (\text{peso de muestra} + \text{peso inicial de tubo})}{\text{muestra}}$$

## V.2.2 Caracterización química

La caracterización química de las harinas y el producto se hizo mediante los métodos de la AOAC (2002); humedad (método 925.10), cenizas (método 923.03), lípidos (920.39) y proteína (método 984.13).

### V.2.2.1 Determinación de humedad

Se pesaron 3 g de muestra en un crisol previamente puesto a peso constante. Posteriormente, el crisol se introdujo en una estufa con temperatura de 130 °C durante 3 horas. Enseguida se colocó en un desecador por 30 minutos para que enfriara y después se pesó y se calculó el porcentaje de humedad con la siguiente ecuación:

% humedad = 
$$\frac{(P_1 - P_2)}{P_3} \times 100$$

Dónde:

P1 = Peso del recipiente con la muestra humedad (g)

P<sub>2</sub> = Peso del recipiente con la muestra seca (g)

P<sub>3</sub> = Peso de la muestra (g)

#### V.2.2.2 Determinación de cenizas

Se pesaron 3 g de muestra en un crisol previamente puesto a peso constante. Se colocó el crisol en una mufla a una temperatura de 550-600 °C durante 4 horas o hasta que las cenizas se tornearan blancas. Posteriormente, se pasó a enfriar a un desecador por 30 minutos. Transcurrido el tiempo se pesó el crisol con las cenizas y se calculó su porcentaje con la siguiente formula:

% Cenizas = 
$$\frac{(P_1 - P_2)}{P_3} \times 100$$

Dónde:

P1 = Peso final (g)

 $P_2$  = Peso crisol (g)

P<sub>3</sub> = Peso de la muestra (g)

### V.2.2.3 Determinación de lípidos

Se pesaron 3 g de muestra en base seca en un cartucho de papel filtro Whatman # 4 previamente identificado, posteriormente se colocó en un cartucho de celulosa y después se introdujo en un tubo goldfish el cual se montó en el equipo goldfish. Seguido de esto, se colocó el vaso goldfish puesto a peso constante previamente y se agregaron aproximadamente 50 ml de éter de petróleo. Se mantuvo la extracción en un flujo durante 4 horas. Terminado el tiempo se retiró el vaso y se secó en la estufa a 100 °C por 3 horas para eliminar residuos de solvente y humedad. Pasado el tiempo, se dejó atemperar en un desecador por 30 minutos y finalmente se registró su peso y se calculó el porcentaje de lípidos con la siguiente formula:

$$\% \ lipidos = \frac{(P_1 - P_2)}{P_3} \times 100$$

Dónde:

P1 = Peso final del vaso (g)

 $P_2$  = Peso inicial del vaso (g)

P<sub>3</sub> = Peso de la muestra (g)

# V.2.2.4 Determinación de proteínas

Para la digestión se pesó 1 g de muestra desgrasada y se colocó en un tubo de digestión Kjeldahl, asimismo, se agregaron los catalizadores (7 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.8 g de CuSO<sub>4</sub>) y 15 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Del mismo modo, se preparó otro tubo sin añadir la muestra (blanco). Los tubos se colocaron en la plancha digestora en donde fueron calentados gradualmente hasta alcanzar los 400 °C. Se dejó enfriar y posteriormente fueron pasados al destilador.

Para la destilación se adicionaron a los tubos Kjeldahl; 50 mL de NaOH al 40%, 100 mL de agua destilada y 25 mL de ácido bórico al 0.2 N con los indicadores rojo de metilo y verde de bromocresol a un pH de 4.6. Por otra parte, se colocó un matraz Erlenmeyer de 250 mL para recibir la mezcla anterior, la cual fue titulada con HCI 0.1 N previamente valorado, observando un cambio de color de verde a rosa. Para finalizar, se determinó el nitrógeno total, multiplicando por un factor de conversión (6.25) equivalente al porcentaje de proteína presente en el alimento. La fórmula utilizada para hacer la determinación fue la siguiente:

$$\%$$
 Nitrógeno =  $\frac{(A*B*0.014*100)}{C}$   
 $\%$  Proteína =  $\%$  Nitrógeno x 6.25

Dónde:

A = Volumen de HCI empleado para titular la muestra (mL)

B = Normalidad del HCl (N)

C = Peso de la muestra (g)

0.014= Miliequivalentes del nitrógeno

#### V.2.2.5 Determinación de carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se calculó como la diferencia del porcentaje obtenido de los otros componentes mediante la siguiente formula:

% Carbohidratos = 100 - % Humedad - % Cenizas - % Grasa - % Proteína

#### V.2.3 Caracterización nutracéutica

#### V.2.3.1 Fibra total dietaria

La fibra dietaria total se calculó mediante la suma de las cantidades de fibra soluble e insoluble, así como lo muestra la siguiente formula:

% Fibra dietética total = % Fibra insoluble + % Fibra soluble

### V.2.3.1.1 Determinación de fibra insoluble

La fibra insoluble se determinó siguiendo el método propuesto por Shiga et al. (2003). Se pesaron 3 g de muestra molida y desgrasada y se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL protegiéndolo de la luz. Al matraz se le añadieron 50 mL de solución amortiguadora de fosfatos (0.08 mM a pH 6) y 100 μL de α-amilasa. Posteriormente, se incubó en baño María a 95°C durante 30 minutos agitando cada 5 minutos. Pasado el tiempo, se retiraron del baño María y se dejó atemperar hasta tener temperatura ambiente. Después, se le ajustó el pH a 7.5 con NaOH 0.275 N. Consecutivamente, con el pH ya ajustado se adicionaron 100 μL de proteasa de y se incubó en baño María a 60 °C por 30 minutos con agitación continua. Transcurrido el tiempo, se dejó atemperar y se ajustó nuevamente el pH a 4 con HCl 0.275 N. Enseguida, se agregaron 300 μL de amiloglucosidasa y se incubó por 30 minutos a 60 °C con agitación continua. Una vez terminada la incubación se pasó a filtrar en un papel Whatman # 4 (puesto a peso constante previamente) utilizando un matraz Kitasato con un embudo Büchner al vacío. Se realizaron 2 lavados de 15 mL con

agua destilada a una temperatura de 60 °C, y 2 lavados de 15 mL con etanol al 80 %. El papel filtro con el sólido filtrado se secó en estufa a 60 °C durante 24 horas y finalmente se registró su peso. La fibra insoluble es lo que se quede en el filtro después del tratamiento enzimático y se calculó mediante la siguiente fórmula:

% Fibra insoluble= 
$$\frac{P_2 - P_1}{P_3} \times 100$$

P<sub>1</sub> = Peso del papel filtro (g)

P<sub>2</sub> = Peso final del papel con el sólido filtrado (g)

P<sub>3</sub> = Peso de la muestra (g)

### V.2.3.1.2 Fibra soluble

Basándose en la metodología de la determinación de fibra insoluble, se conservó la solución filtrada pasándose a un matraz Erlenmeyer, agregando un volumen igual de etanol al 80 % y se dejó reposar por 48 horas en refrigeración cubierto de la luz. Posteriormente, se filtró en papel Whatman # 42 (puesto a peso constante previamente). Seguido de esto, se realizaron 2 lavados de 15 mL con etanol al 80 %, y 2 lavados de 15 mL con acetona. Finalmente, se secó el papel filtro a 60 °C por 24 horas y se registró su peso. El porcentaje de fibra soluble se obtuvo utilizando la siguiente fórmula:

% Fibra soluble= 
$$\frac{P_2 - P_1}{P_3} \times 100$$

P<sub>1</sub> = Peso del papel filtro (g)

P<sub>2</sub> = Peso final del papel con el sólido filtrado (g)

P<sub>3</sub> = Peso de la muestra (g)

# V.2.3.2 Extracción de compuesto fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó utilizando el método descrito por Cardador-Martínez et al. (2002). Se pesó 1 g de muestra seca previamente molida y tamizada por malla # 60 y se colocó en un matraz Erlenmeyer

de 50 mL protegiéndolo de la luz, al cual se le agregaron 10 mL de metanol y se mantuvo en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente con la ayuda de un agitador magnético. Posteriormente, el contenido del matraz se centrifugó a 5000 rpm por 10 minutos. Una vez obtenido el sobrenadante, se almacenó a 4 °C protegiéndolo de la luz.

#### V.2.3.3 Cuantificación de fenoles totales

Para la cuantificación de fenoles totales se utilizó la metodología desarrollada por Singleton y Rossi (1965). Se agregaron 50 μL del extracto metanólico, 200 μL de agua destilada y 125 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:1) a un microtubo ámbar, enseguida se agitó en vórtex por 5 minutos. Consecutivamente, se agregaron 625 μL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7 % y se incubó por 2 horas en la oscuridad. Pasado el tiempo, se tomaron 250 μL y pasaron a una microplaca La cuantificación se realizó en un espectrofotómetro lector de placa a una longitud de onda de 760 nm. Se hizo una comparación de los resultados obtenidos con una curva de calibración de ácido gálico (0-80 μg/mL). El contenido de fenoles totales se expresó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra.

### V.2.3.4 Cuantificación de flavonoides

La cuantificación de flavonoides se desarrolló por el método descrito por Oomah et al. (2005). Se mezclaron 50 µL de extracto metanólico con 180 µl de agua destilada y 20 µL de una solución de 2-aminoetil difenil borato (1 %) en una microplaca. Se utilizó un espectrofotómetro lector de placa y se leyó a una longitud de onda de 404 nm. Las absorbancias que se obtenidas se compararon con una curva estándar de rutina. El contenido de flavonoides se expresa como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra.

#### V.2.3.5 Cuantificación de taninos condensados

Cuantificación de taninos se realizó con la metodología desarrollada por Feregrino-Pérez et al. (2008) adaptado a microplaca. En una microplaca de 96 pozos se colocaron 50 µL de extracto metanólico por triplicado. Posteriormente, se adicionó 200 µL de vainillina (0.5 % vainillina, 8 % HCI en metanol). Los taninos condensados fueron cuantificados a una longitud de onda de 492 nm en el espectrofotómetro. La concentración de los taninos se calculó a partir de una curva de calibración con (+)-catequina a concentraciones de 0.1-0.8 mg/mL. El contenido de taninos se reportó como mg equivalentes de (+)-catequina por gramo de muestra.

# V.2.4 Capacidad antioxidante

### V.2.4.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH

El método utilizado para medir la capacidad antioxidante fue el descrito por Fukumoto y Mazza, (2000). En una microplaca se añadieron 20 μL de extracto metanólico y 200 μL de solución DPPH. Se tomó lectura de los 0 a los 90 minutos cada 10 minutos a 540 nm en un espectrofotómetro. Los valores obtenidos fueron comparados contra una curva de calibración de Trolox (0-800 μM/mL) como estándar. Los resultados fueron expresados como μmol equivalente de Trolox por gramo de muestra.

### V.2.4.2 Capacidad antioxidante por el método ABTS

La capacidad antioxidante fue medida por el método descrito por Nenadis et al. (2004). Se preparó una solución acuosa 7nM de ABTS y una solución de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 140 mM. Posteriormente, se preparó una solución con 5 mL de ABTS y 88 μL de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. La solución se dejó en reposo y protegida de la luz por 12 horas para generar el radical. Finalizado el tiempo, se tomaron 230 μL de la solución y se le agregaron 10 mL de etanol. La solución anterior fue leída a una longitud de onda de 734 nm

obteniendo absorbancias entre 0.8 y 1. En una microplaca se adicionó 20 µL de extracto metanólico y un control con 20 µL de metanol. Seguido, se adicionaron 230 µL de ABTS a cada pozo y se leyó a 734 nm. Los valores obtenidos fueron comparados contra una curva de calibración usando Trolox (0-800 µmol/ ml) como estándar. Los resultados se expresaron como µmol equivalente de Trolox por gramo de muestra.

## V.2.5 Formulación del pan de caja

La formulación del pan de caja se realizó de acuerdo a pruebas preliminares de porciones concluyendo el uso de 50 % harina de maíz y 50 % harina de frijol. Asimismo, se utilizaron los siguientes ingredientes: aceite de oliva, harina de almendras, lecitina, almidón, polvo para hornear, azúcar, sal y goma xantana. Dentro de la metodología para la elaboración, primeramente, se pesaron y se mezclaron los ingredientes secos, posteriormente, se agregaron los ingredientes líquidos previamente medidos y se mezclaron de manera manual por 10 minutos. Una vez integrado todo, se adicionó la masa en un molde de aluminio de 15 x 8 x 5 cm y se horneo por 40 minutos a 200 °C. El pan se realizó de acuerdo a las buenas prácticas de higiene para el proceso de alimentos, según la norma oficial mexicana NOM-251-SSA1-2009.

### V.2.6 Digestibilidad in vitro

# V.2.6.1 Digestibilidad in vitro de proteínas

La digestión de la proteína se realizó por el método propuesto por Hsu et al. (1977) con modificaciones, el cual consiste en un sistema multienzimático conformado por: tripsina, quimiotripsina y pepsina (>2500 units/mg protein). Este método parte de pesar muestra molida y tamizada por malla # 60 que corresponda a 63.8 mg de proteína y se disuelve en 10 mL de agua destilada, la cual fue colocada en tubos con 50 mL. Se ajustó el pH de la suspensión a 8.0 con HCl o NaOH 0.1 N

(según fue el caso), seguido de esto se incubó en baño María a 37 °C por 15 minutos, manteniéndose en agitación constante. Posteriormente, se adicionó 1 mL de la solución multienzimática (en concentraciones de 1.58 mg de tripsina, 3.65 mg de quimiotripsina y 0.45 mg de pepsina en 1 mL de agua destilada) y se incubó por 10 minutos a 37 °C con agitación continua. Pasado el tiempo, se adicionó 1 mL de proteasa bacteriana (1.48 mg en 1 mL de agua destilada) y se incubó 10 minutos a 55 °C. Posteriormente, se dejó enfriar y se midió el descenso de pH. El pH registrado se sustituyó en la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de digestibilidad proteica. Se realizó un control con caseína.

% Digestibilidad de proteína=234.84-22-56x

Donde:

x: medida de pH de muestra digestada

V.2.6.2 Digestibilidad in vitro de carbohidratos

V.2.6.2.1 Almidón total

La determinación de almidón total se realizó con la metodología descrita por Goñi et al. (1997). Se adicionaron 50 mg de muestra en tubos Falcon de 50 mL. A los tubos se añadieron 3 mL de agua destilada y 3 mL de KOH 4.0 M. Esta solución fue llevada a agitación constante a temperatura ambiente durante 10 min. Finalizado el tiempo, se adicionaron 3 mL de una solución amortiguadora de acetato de sodio pH 4.7 (0.4 M) y 5.5 mL de HCl 2.0 M. El pH de la solución debe ser ajustado a 4.75 usan do HCl o NaOH 0.1 M, según lo requiera. Después, se adicionaron 60 µL de amiloglucosidasa y se incubó en baño María a 60 °C con agitación constante por 45 minutos. Una vez pasado el tiempo, las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 min, el sobrenadante fue recuperado en un matraz de 50 mL y se realizaron 2 lavados con 15 mL de agua destilada. Al recuperar todo el sobrenadante, se aforó en un matraz de 50 mL con agua destilada. La medición del contenido de

glucosa en las muestras se realizó mediante el kit glucosa oxidasa/peroxidasa, midiendo la absorbancia a 540 nm. Se compararán los resultados respecto una curva de glucosa y se calculó el contenido de almidón con la siguiente formula:

% Almidón total = 
$$\frac{(\mu g/mL \ de \ glucosa)(volumen \ de \ aforo)(0.9)(100)}{\mu g \ de \ muestra}$$

### V.2.6.2.2 Almidón disponible

La determinación de almidón disponible se llevó a cabo por la metodología propuesta por Goñi et al. (1997). Se pesaron 50 mg de muestra y se adicionaron 20 mL de agua en un matraz, el cual se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se cubrió un matraz con papel aluminio y se adicionaron 100 μL de αamilasa termoestable a la solución. El matraz se llevó a un baño a 95 °C con agitación constante durante 20 min. Al finalizar el tiempo, se atemperó el matraz. El contenido del matraz se aforó a 100 mL. Después, en un tubo Eppendorf cubierto con aluminio se colocó1 mL de solución amortiguadora de acetato (pH 4.75 y 0.4 M), 25 µL de amiloglucosidasa y 300 µL de muestra. La solución resultante se incubó bajo agitación constante a 60 °C durante 30 min. Pasado el tiempo, se dejó atemperar el tubo y se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos. Se realizaron 2 lavados de 1 mL con agua destilada. Los sobrenadantes fueron recuperados y aforados a 10 mL con agua destilada. La medición del contenido de glucosa en las muestras se realizó mediante el kit glucosa oxidasa/peroxidasa, midiendo la absorbancia a 540 nm. Se compararon los resultados respecto una curva de glucosa y se calculó el contenido de almidón con la siguiente formula:

% Almidón disponible = 
$$\frac{(\mu g/mL\ de\ glucosa)(volumen\ de\ aforo)(dilución)(0.9)(100)}{\mu g\ de\ muestra}$$

### V.2.6.2.3 Almidón resistente

El almidón resistente se determinó por el método empleado por Saura-Calixto et al. (1993). Se tomaron 100 mg de fibra insoluble y se colocaron en un matraz

Erlenmeyer de 50 mL, posteriormente, se adicionaron 6 mL de KOH 2M. Esta solución se llevó a incubación a 25 °C con agitación continua durante 30 min. Más adelante, se adicionaron 3 mL de solución amortiguadora de acetato de sodio (0.4 M y pH 4.75). Al matraz se le adicionaron 60 µL de la enzima amiloglucosidasa y se llevó a incubación a 60 °C durante 30 minutos y con agitación continua. Finalizada la incubación, se dejó atemperar el matraz y el contenido se centrifugó a 10,000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se recuperó y se realizaron 2 lavados con 10 mL de agua HPLC con el sedimento y se aforó en un matraz de 50 mL.

La lectura de la muestra se realizó con un kit de glucosa oxidasa/peroxidasa. En una microplaca se adicionaron 50 μL de la muestra o el estándar (glucosa) y 100 μL del reactivo del ensayo (incluido en el kit). La microplaca se incubó por 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se adicionaron 100 μL de ácido sulfúrico 12 N y se leyó a 540 nm. La curva para esta medición y para todas las de almidón se realizaron usando diferentes concentraciones de glucosa provenientes de una solución patrón incluida en el kit (1 μg/mL).

% Almidón resistente = 
$$\frac{(\mu g/mL \ de \ glucosa)(volumen \ de \ aforo)(0.9)(100)}{\mu g \ de \ muestra}$$

V.2.7 Propiedades físicas del pan

V.2.7.1 Peso

El peso de la barra de pan en gramos se midió con una balanza después de una hora de horneado.

V.2.7.2 Altura

Con un vernier se midió la altura del pan en cm, partiendo desde el centro de la barra.

# V.2.7.3 Volumen y volumen específico

El volumen se determinó de acuerdo a AACC (2001) el cual consiste en el método de desplazamiento de semillas de mostaza. El volumen específico (cm<sub>3</sub>/g) se calculó con la siguiente fórmula:

$$Volumen \ específico \ = \frac{Volumen}{Peso}$$

# V.2.8 Análisis del perfil de textura

Para la determinación de los parámetros de textura se utilizó un texturómetro Brookfield. Se aplicó la secuencia de análisis de perfil de textura (compresión en dos ciclos) utilizando una celda de carga de 10 kg, utilizando una sonda cilíndrica de 25.4 mm sobre una rebanada de pan de un 1 cm. El ensayo se realizó a una velocidad 1 mm/s y una compresión máxima del 50 %. A partir de las curvas de TPA, se midieron los siguientes parámetros de textura: dureza, elasticidad, cohesión y masticabilidad (Cornejo y Rosell, 2015).

# V.2.9 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008 que establece las especificaciones sanitarias que deben cumplir los productos de panificación. Se cuantificó coliformes totales por la NOM-113-SSA1-1994 y mesófilos por NOM-092-SSA1-1994. Del mismo modo, se hizo la determinación de mohos y levaduras según la NOM-111-SSA1-1994.

#### V.2.10 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del análisis estadístico se expresaron como la media ± la desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza y las diferencias entre alespara
el factor y los h medias de los tratamientos se analizaron por método de Tukey, utilizando el programa JMP 8. Se realizó un diseño unifactorial con 2 niveles para la formulación del pan, en donde el método de cocción de harinas fue el factor y los niveles fueron

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VI.1 Composición química y nutracéutica de las harinas de frijol y maíz

## VI.1.1 Composición química de las harinas

La composición química de las harinas de frijol Bayo Madero y maíz blanco procesadas por extrusión y calentamiento óhmico se muestra en el Cuadro 2. Para la harina de frijol extrudido, los datos obtenidos son ligeramente diferentes a lo reportado por Sánchez-Quezada (2018) utilizando la misma variedad de frijol que en este estudio y el método de extrusión, en donde el contenido de proteínas fue de 28.49 %, 2.44 % de lípidos, 4.78 % de cenizas y 57.60 % de carbohidratos. En esta investigación los datos obtenidos para proteína (21.59 %) y cenizas (3.54 %) fueron menores, mientras que, para lípidos (3.54 %) y carbohidratos (71.28 %) fueron mayores. La diferencia de contenido nutricional entre las mismas variedades de frijol se puede atribuir a diversos factores en la postcosecha tales como: contenido de humedad de la semilla, temperatura de almacenamiento, duración de almacenamiento, las condiciones ambientales, entre otros, que van a tener un efecto directo en la calidad de los granos (Kibar y Kibar, 2019). En este caso, se utilizaron diferentes cosechas de Bayo Madero los cuales se almacenaron a diferentes condiciones.

Por otro lado, García-Mier et al. (2009) reportan en harinas de frijol Bayo Madero por calentamiento óhmico un contenido de proteína de 16.88 %, 2.25 % de lípidos, 4.19 % de cenizas y 63.70 % de carbohidratos, siendo menor que lo encontrado en este estudio.

En harinas de maíz extrudido, se obtuvieron datos en el rango reportado por Reyes-Moreno et al. (2003) con un contenido de proteínas de 10.5 %, 5.90 % de lípidos, 2.02 % de cenizas y 81.48 % de carbohidratos. Se puede observar que, en esta investigación, tanto el aporte de lípidos (5.20 %), proteínas (9. 55%) así como

de carbohidratos (83.89 %) es muy similar. En el caso de harinas de maíz obtenidas por calentamiento óhmico, Ramírez-Jiménez et al. (2019) reportan un contenido de proteína de 8.01 %, 3.77 % de lípidos, 1.39 % de cenizas y 86.86 % de carbohidratos. Mientras que en esta investigación solo el contenido de carbohidratos (77.50 %) fue menor en comparación con los otros componentes. El contenido de lípidos fue hasta tres veces mayor (10.30 %), ya que la variedad utilizada en este estudio fue alta en lípidos, en comparación con la usada por Ramírez-Jiménez et al. (2019).

Por otro lado, la aplicación de las diferentes tecnologías emergentes para la obtención de las harinas tuvo un efecto en el contenido de proteína con diferencia estadística (p ≤ 0.05) tanto en proteínas de frijol común y maíz, conservando un mayor contenido con el calentamiento óhmico. El calentamiento óhmico es un proceso en el que los alimentos se calientan simultáneamente al pasar una corriente eléctrica a través de ellos, estos mismos actúan como una resistencia eléctrica, en donde el alimento se calienta mediante la disipación de energía eléctrica. El calentamiento por resistencia eléctrica permite que las partículas se calienten a la misma velocidad y que éste sea rápido, se ha informado que debido a que el calentamiento es uniforme y rápido, en contraste con otros métodos en donde la distribución no es uniforme, evita la degradación de compuestos termosensibles por sobrecalentamiento (Varghese *et al.*, 2014).

Por otra parte, el contenido de lípidos en las harinas de maíz tuvo diferencia significativa (p ≤ 0.05), en donde el calentamiento óhmico tuvo un mayor contenido. Se ha demostrado que, esta tecnología es funcional como un tratamiento previo a la extracción de aceites, teniendo un mayor rendimiento en comparación con otros métodos como el prensado por tornillo, o el método tradicional, atribuyéndose a la electroporación, la cual facilita la ruptura de las membranas celulares, permitiendo una mayor extracción. Además, el rendimiento de extracción aumenta con el incremento de voltaje y la temperatura (Aamir y Jittanit, 2017).

**Cuadro 2**. Contenido de proteínas, lípidos, cenizas y carbohidratos en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico.

Tratamiento	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos
Tratamiento		(%		
HFE	21.59 ± 0.03 <sup>b</sup>	$3.54 \pm 0.36^{a}$	$3.54 \pm 0.03^{b}$	$71.28 \pm 0.28^{a}$
HFCO	22.09 ± 0.13 <sup>a</sup>	$2.72 \pm 0.38^{a}$	$4.33 \pm 0.06^{a}$	$70.84 \pm 0.54^{a}$
НМЕ	9.55 ± 0.02 <sup>b</sup>	5.20 ± 0.12 <sup>b</sup>	$1.35 \pm 0.02^{b}$	83.89 ± 0.08 <sup>a</sup>
НМСО	9.84 ± 0.09 <sup>a</sup>	$10.30 \pm 0.08^{a}$	$2.34 \pm 0.07^{a}$	$77.50 \pm 0.09^{b}$

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

HFE: Harina de frijol común extrudido (condiciones: 120 °C, 10 rpm)

HFCO: Harina de frijol común por calentamiento óhmico (condiciones: 70 V, 110 °C)

HME: Harina de maíz extrudido (condiciones: 80 °C, 20 rpm)

HMCO: Harina de maíz por calentamiento óhmico (condiciones: 120 V, 85 °C)

# VI.1.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de harinas

Los compuestos fenólicos son una clase de metabolitos secundarios de las plantas, que cumplen con algunas funciones como defensa y supervivencia de la misma. Además, se han relacionado con beneficios a la salud humana. Los compuestos fenólicos presentes en las harinas de frijol cocido y maíz se presentan en el Cuadro 3.

**Cuadro 3.** Contenido de fenoles totales, flavonoides y taninos condensados en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico.

CIO .	Fenoles totales	Flavonoides	Taninos condensados
Tratamiento	(mg eq. de ácido gálico/g de muestra seca)	(mg eq. de rutina /g de muestra seca)	(mg eq. (+) catequina /g de muestra seca)
HFE	1.21 ± 0.10 <sup>b</sup>	$0.27 \pm 0.03^{a}$	8.52 ± 1.18 <sup>a</sup>
HFCO	1.74 ± 0.30 <sup>a</sup>	$0.12 \pm 0.02^{b}$	$10.22 \pm 0.38^{a}$
НМЕ	1.03 ± 0.20 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>a</sup>	12.01 ± 1.06 <sup>a</sup>
НМСО	1.11 ± 0.04 <sup>a</sup>	$0.08 \pm 0.01^{a}$	10.84 ± 1.10 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

HFE: Harina de frijol común extrudido (condiciones: 120 °C, 10 rpm)

HFCO: Harina de frijol común por calentamiento óhmico (condiciones: 70 V, 110 °C)

HME: Harina de maíz extrudido (condiciones: 80 °C, 20 rpm)

HMCO: Harina de maíz por calentamiento óhmico (condiciones: 120 V, 85 °C)

Los datos obtenidos en el contenido de fenoles totales en la harina de frijol extrudido son comparables con los reportados por Korus et al. (2007), en donde el contenido fue de 7.27-5.38 mg/g de muestra seca, en frijoles extrudidos a una temperatura de 120 °C con una humedad del 20 %, siendo mayor que lo encontrado en esta investigación (1.21 mg/g de muestra seca). Estos cambios se deben a que Korus et al. (2007) estudiaron distintas variedades de frijol, las cuales se ha reportado que tienen mayores compuestos fenólicos ya que tiene un mayor aporte de antocianinas, encargadas de dar color al grano (Salinas-Moreno et al., 2005).

Por otro lado, en este trabajo se utilizó una variedad Bayo Madero de la cosecha del 2018, la cual puede considerarse "hard to cook" (HTC por sus siglas en inglés) que consiste en la incapacidad de los cotiledones para ablandarse lo suficiente durante la cocción prolongada. Motivo por lo que se procedió a acondicionar la muestra para pasarlo por el extrusor, y de esta forma llegar a la humedad requerida. Se ha reportado que en estos tipos de frijol HTC contienen niveles más bajos de compuestos fenólicos, debido a la polimerización de estos compuestos, dando como resultado polímeros insolubles de alto peso molecular (Martín-Cabrejas *et al.*, 1997).

García-Mier et al. (2012) aplicando también calentamiento óhmico a tiempos de 90 a 150 min, reportan un contenido de taninos condensados en el intervalo de 0.44–2.77 mg/g de muestra). En este estudio los taninos estuvieron en mayor concentración, debido a que el tiempo en el que fueron procesados fue menor (10 minutos).

Para el maíz por calentamiento óhmico, los resultados de fenoles totales fueron menores (1.11 mg/g de muestra seca) a los obtenidos por Ramírez-Jiménez et al. (2019) en donde reportan de 24 a 39.6 mg/g de fenoles totales. Estas diferencias pueden atribuirse al genotipo y las propiedades físicas, ya que el pericarpio y la capa de la aleurona del endospermo son las estructuras que aportan mayores compuestos fenólicos (Mora-Rochin *et al.*, 2010). Por otro lado, el contenido de flavonoides fue mayor (0.08 mg/g de muestra seca), comparándolo con lo encontrado por Ramírez-Jiménez et al. (2019) con un rango de 0.004-0.06 mg/g. Aunque no tuvo diferencia significativa, el valor de flavonoides totales fue mayor en comparación con la extrusión, lo cual se pude atribuir a que se ha demostrado que el proceso de calentamiento óhmico induce la permeabilización de las paredes celulares, lo que mejora la extracción de compuestos fenólicos.

De acuerdo con lo obtenido en el contenido de fenoles totales, solo las harinas de frijol obtenidas por los métodos de extrusión y calentamiento óhmico tuvieron diferencia significativa (p ≤ 0.05). Resultados que se pueden atribuir a que el calentamiento óhmico es una tecnología que minimiza la degradación de compuestos fenólicos, ya que estos compuestos se conservan mejor debido a que el tiempo de procesamiento es más corto, en comparación con otros métodos (Ramírez-Jiménez et al., 2019; Salari y Jafari, 2020), en este caso con extrusión. Por otro lado, el contenido de flavonoides fue menor con el tratamiento de calentamiento óhmico versus extrusión, debe tenerse en cuenta que además de la temperatura existen otros factores que van a influir en la degradación de compuestos fenólicos, tales como: potencia, frecuencia, concentración de NaCl, conductividad eléctrica, etc., lo cual pudo contribuir a un menor contenido de flavonoides (Salari y Jafari, 2020).

Por otro lado, la capacidad antioxidante de las harinas de frijol y maíz se muestran en el Cuadro 4. Entre las harinas de frijol extrudido y por calentamiento óhmico se puede observar una diferencia significativa ( $p \le 0.05$ ) en la capacidad

antioxidante por el método de DPPH y ABTS. Una de las razones por las que en calentamiento óhmico haya dado un mayor contenido es que, con esta tecnología se conservaron mayormente los compuestos fenólicos, encargados de proveer la capacidad antioxidante. Asimismo, el calentamiento óhmico beneficia la liberación de compuestos antioxidantes inducido por la electropermeabilización durante el tratamiento eléctrico (Mannozzi *et al.*, 2019). En las harinas de maíz por ambos tratamientos no se observó una diferencia significativa.

**Cuadro 4.** Capacidad antioxidante de harinas de frijol y maíz por extrusión y por calentamiento óhmico.

Tratamiento	DPPH (µmoles eq. de Trolo:	ABTS x/g de muestra seca)
HFE	779.30 ±158.54 <sup>b</sup>	2946.19 ± 157.69 <sup>b</sup>
HFCO	1902.15 ± 273.40 <sup>a</sup>	4727.84 ± 161.69 <sup>a</sup>
НМЕ	151.83 ± 37.90 <sup>a</sup>	4485.74 ± 433.74 <sup>a</sup>
HMCO	126.73 ± 8.76 <sup>a</sup>	4073.70 ± 228.76 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

HFE: Harina de frijol común extrudido (condiciones: 120 °C, 10 rpm)

HFCO: Harina de frijol común por calentamiento óhmico (condiciones: 70 V, 110 °C)

HME: Harina de maíz extrudido (condiciones: 80 °C, 20 rpm)

HMCO: Harina de maíz por calentamiento óhmico (condiciones: 120 V, 85 °C)

### VI.1.3 Contenido de fibra dietaria en harinas de frijol y maíz

En el Cuadro 5 se muestra el aporte de fibra dietaria total, soluble e insoluble de las harinas de frijol y maíz por las diferentes tecnologías.

**Cuadro 5.** Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble en harinas de frijol y maíz por extrusión y calentamiento óhmico.

Tratamiento	Fibra total	Fibra soluble	Fibra insoluble
Tratamiento		(%)	
HFE	27.79 ± 0.47 <sup>a</sup>	1.48 ± 0.25 <sup>a</sup>	26.31 ± 0.21 <sup>a</sup>
HFCO	30.21 ± 1.37 <sup>a</sup>	$2.20 \pm 0.89^{a}$	28.01 ±1.52 <sup>a</sup>
НМЕ	18.81 ± 0.72 <sup>a</sup>	2.01 ± 0.45 <sup>a</sup>	16.79 ± 0.26 <sup>a</sup>
НМСО	18.16 ± 0.05 <sup>a</sup>	$1.16 \pm 0.26^{a}$	$17 \pm 0.25^{a}$

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

HFE: Harina de frijol común extrudido (condiciones: 120 °C, 10 rpm)

HFCO: Harina de frijol común por calentamiento óhmico (condiciones: 70 V, 110 °C)

HME: Harina de maíz extrudido (condiciones: 80 °C, 20 rpm)

HMCO: Harina de maíz por calentamiento óhmico (condiciones: 120 V, 85 °C)

El contenido de fibra total, soluble e insoluble no tuvo diferencia estadística tanto para harina de frijol como para harina de maíz para los dos métodos. Sin embargo, se ha demostrado que procesos térmicos como la extrusión tienen impacto en la distribución tanto de la fibra soluble como de la insoluble. Lo anterior debido a la solubilización por la ruptura de moléculas como celulosa y hemicelulosa, en moléculas más pequeñas como β-glucanos solubles (Garcia-Amezquita *et al.*, 2020). Asimismo, hay mayor almidón dañado a causa de la fragmentación del almidón por el cizallamiento dado por el extrusor. La pérdida de la cristalinidad es por la rotura mecánica de los enlaces moleculares dentro de la estructura del almidón, de esto modo se puede considerar un incremento en la fibra dietaria expresado en almidón resistente (Castro *et al.*, 2017).

Por otro lado, según lo reportado por Ramírez-Jiménez et al. (2019) el calentamiento óhmico incrementa el contenido de fibra en maíz comparado con un tratamiento de nixtamalización tradicional, debido a que en esta tecnología no es necesario la remoción del pericarpio el cual contiene arabinoxilanos.

# VI.2 Parámetros fisicoquímicos en las harinas de frijol y maíz

El índice de absorción de agua (IAA) y la capacidad de absorción de aceite (CAA) se incluyen como pruebas fisicoquímicas que se realizan en harinas, esto con el fin de saber cómo es que puede influir en la calidad de la harina para la elaboración de diferentes productos alimenticios. El Cuadro 6 se presenta el IAA y la CAA para las harinas de frijol y maíz realizadas con el método de extrusión y calentamiento óhmico.

Cuadro 6. Índice de absorción de agua y aceite de harinas de frijol y maíz.

Tratamiento	IAA	CAA
Tratamiento	(g de agua /g muestra)	(ml de aceite /g muestra)
HFCO	1.98 ± 0.21 <sup>a</sup>	$1.08 \pm 0.05^{a}$
HFE	1.78 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.10 ± 0.12 <sup>a</sup>
НСМО	1.34 ± 0.15 <sup>b</sup>	$0.88 \pm 0.13^{a}$
HME	2.11 ± 0.03 <sup>a</sup>	$0.87 \pm 0.12^{a}$

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

HFE: Harina de frijol común extrudido (condiciones: 120 °C, 10 rpm)

HFCO: Harina de frijol común por calentamiento óhmico (condiciones: 70 V, 110 °C)

HME: Harina de maíz extrudido (condiciones: 80 °C, 20 rpm)

HMCO: Harina de maíz por calentamiento óhmico (condiciones: 120 V, 85 °C)

IAA: Índice de absorción de agua CAA: Capacidad de absorción de aceite

El IAA se puede asociar con la determinación del volumen que ocupa el almidón después de hincharse tras un exceso de agua e indica la integridad del almidón en dispersiones acuosas. Asimismo, está relacionado con la hidrofilicidad y capacidad de gelificación de almidón y proteínas (Du *et al.*, 2014).

El IAA en las harinas de frijol, tanto en calentamiento óhmico como en extrusión fue bajo comparado con el estudio realizado por Gu et al. (2020) que fue de 2.90 g/g y se pudiese atribuir al contenido de proteína, que fue más bajo comparado con dicha investigación (29.76 % vs. 22.09 %, respectivamente). Las

proteínas tienen la funcionalidad de retención de agua, debido a los enlaces de hidrógeno que se forman entre el agua y los residuos polares de las moléculas de proteína. Se ha reportado que la extrusión disminuye la solubilidad, principalmente a interacciones no covalentes entre cadenas polipeptídicas y otros constituyentes y también a la formación de nuevos enlaces disulfuro (Balandran-Quintana, 1998). Por otro lado, en las harinas de maíz se observó un aumento en el IAA de la harina extrudida. Esto puede atribuirse a la gelatinización del almidón, debido a la mayor cantidad de carbohidratos obtenidos por este proceso, el cual puede pensarse que tiene mayor cantidad de almidón disponible (Du *et al.*, 2014).

Para el desarrollo de un pan es de suma importancia el IAA de las harinas ya que, a mayor capacidad de retención de agua da como resultado masas consistentes y elásticas, obteniendo un volumen mayor en el pan.

La CAA se ha relacionado con el mejoramiento de la textura del alimento en la boca y mantener su sabor. Los datos obtenidos de CAA para las harinas de frijol fueron similares a lo obtenido por Du et al. (2014) (0.93–1.38 g/g) en donde estudiaron diferentes leguminosas incluido el frijol. No se observó una diferencia significativa (p ≥ 0.05) entre ambos métodos de cocción para la obtención de harinas de frijol y maíz. La CAA se da por medio del atrapamiento físico del aceite dentro de proteínas y a enlaces hidrófobos electrostáticos y de hidrógeno como fuerzas que se asocian a interacciones lípido-proteína. El tamaño de partícula, composición química de las harinas, contenido de humedad e interacciones almidón-proteína-lípido pueden ser factores que repercuten en retención de aceite (Farooq y Boye, 2011).

# VI.3 Formulación del pan de caja

Para la formulación del pan se utilizaron diferentes ingredientes, los cuales se muestran en el Cuadro 7, describiendo la función que tienen cada uno sobre el desarrollo del pan.

Cuadro 7. Ingredientes usados en el pan de caja de frijol y maíz.

Ingredientes	Función	Referencia
Harina de frijol	Fuente de proteína, carbohidratos, compuestos bioactivos (fibra, compuestos fenólicos, entre otros) y lisina.	Chávez- Mendoza y Sánchez, 2017
Harina de maíz	Fuente de lípidos, carbohidratos, compuestos bioactivos (fibra, compuestos fenólicos, etc.) y metionina.	Ai y Janel, 2016
Harina de almendra	Aporte nutricional con fuente de ácidos grasos insaturados, proteína, fibra, además, mejora sabor.	Stoin <i>et al.</i> , 2018
Almidón de maíz	Aumento en el volumen específico del pan.	Kim <i>et al.</i> , 2015
Fécula de papa	Mejora la miga y textura del pan.	Kim <i>et al.</i> , 2015; Horstmann <i>et</i> <i>al.</i> , 2016
Azúcarmascabada	Proporciona sabor.	Mesas y Alegre, 2002
Lecitina	Mejora las interaccionas entre ingredientes, contribuye en la reología del pan.	Nunes <i>et al.</i> , 2009; El Khoury <i>et al.</i> , 2018
Polvo para hornear	Aumento de volumen en pan debido al "levantamiento de masa" por el amasado y el calor de la cocción, con la producción de CO <sub>2</sub> .	Mesas y Alegre, 2002
Sal	Da sabor, aumenta la capacidad de retención de agua en el pan.	Mesas y Alegre, 2002

Xantana	Reduce el endurecimiento y mejora la elasticidad, contribuye con el color del pan y en la formación de miga con una mayor porosidad.	Herawati, 2019; Salehi, 2019
Aceite de oliva	Fuente de ácidos grasos insaturados, aumenta el volumen del pan y reduce el endurecimiento. Mejora la porosidad.	Mancebo <i>et al.</i> , 2017
Agua	Hidratación de harinas, disminuye el endurecimiento del pan y confiere elasticidad.	De La Hera <i>et</i> al., 2016

En la Figura 10 se muestra el pan de caja preparado con harinas de frijol y maíz, las cuales se obtuvieron por los métodos de extrusión y calentamiento óhmico.



**Figura 10.** Pan de caja a base de frijol y maíz elaborados con harinas obtenidas por extrusión y calentamiento óhmico.

### VI.4 Pruebas físicas y parámetros de textura del pan de caja de frijol y maíz

### VI.4.1 Pruebas físicas del pan de caja

Las pruebas físicas del pan de caja se midieron con el objetivo de conocer cómo es que repercutían las diferentes tecnologías empleadas en la obtención de harinas en el peso, altura y volumen del pan. Además de ser pruebas de calidad que se realizan al pan de caja (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Peso, altura y volumen específico de los panes realizados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico y un tratamiento tradicional.

Tratamiento	Peso	Altura	Volumen específico
Tratamiento	(g)	(cm)	(cm <sup>3</sup> /g)
PE	100.36 ± 3.28 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.11 <sup>b</sup>	$1.92 \pm 0.35^{a}$
PCO	99.78 ± 4.14 <sup>a</sup>	$4.3 \pm 0.17^{a}$	$2.08 \pm 0.22^{a}$
PT	97.86 ± 1.28 <sup>a</sup>	$3.5 \pm 0.07^{b}$	1.59 ± 0.18 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional

Dentro de las pruebas físicas realizadas al pan, solo se observó una diferencia significativa en la altura ( $p \le 0.05$ ), en donde el pan preparado con harinas de frijol y maíz por calentamiento óhmico tuvo el mayor valor. El resultado obtenido se puede relacionar con el contenido de proteína, el cual fue mayor que en las harinas elaboradas por extrusión. Las proteínas pueden contribuir en la formación de una red para la retención de gases producidos durante el horneado gracias al polvo para hornear (Rostamian  $et\ al.$ , 2014).

Se puede observar una ventaja del uso de las tecnologías emergentes sobre el uso de los métodos tradicionales o convencionales para la obtención de harinas,

ya que como se muestra en el Cuadro 8, el pan preparado con harinas por método tradicional (PT) no obtuvo mejores resultados al menos en la altura.

## VI.4.2 Parámetros de textura del pan de caja

El análisis del perfil de textura evalúa la textura de un alimento, la cual consiste en una prueba de compresión de dos ciclos que imita los dos primeros bocados de un alimento. Algunos de los parámetros que se determinan son: dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad, los cuales se utilizan para comparar los atributos sensoriales y reológicos (Nishinari *et al.*, 2013). En el Cuadro 9 se observan los parámetros descritos anteriormente analizados en los diferentes panes.

**Cuadro 9.** Parámetros de textura de los panes elaborados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico y un tratamiento tradicional, y pan artesanal obtenido en una panadería comercial.

Tratamiento	Dureza	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad
	(Newton)	70	(mm)	(megaJoule)
PE	75 ± 5.98 <sup>b</sup>	$0.24 \pm 0.01^{b}$	$2.83 \pm 0.5^{b}$	$50.9 \pm 3.2^{b}$
PCO	81.7 ± 4.11 <sup>b</sup>	$0.26 \pm 0.02^{b}$	$3.29 \pm 0.08^{b}$	$68.7 \pm 6^{a}$
PT	102 ± 7.15 <sup>a</sup>	$0.19 \pm 0.02^{c}$	2.54 ± 0.1 <sup>b</sup>	48.4 ± 5.2 <sup>bc</sup>
PA	$18.2 \pm 1.65^{c}$	$0.34 \pm 0.02^{a}$	$5.73 \pm 0.3^{a}$	35.83 ± 4.23 <sup>c</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

Los datos obtenidos en los panes con las tecnologías de extrusión y calentamiento óhmico son similares como lo reporta Hernández-Aguilar et al. (2019), para la dureza se puede ver una tendencia en su aumento. Ellos observaron que, al aumentar el contenido de leguminosa (germinado de lentejas) para la elaboración del pan, aumentaba la dureza de un 3.20 N pan control (solo trigo) hasta 25.93 N con un

10% de germinado de lentejas. De igual forma, la elasticidad mostró valores similares (3.99 mm), sin embargo, la cohesividad y la masticabilidad fue mayor con valores de 0.59 y 57.17 mJ, respectivamente. A pesar de que la masticabilidad fue mayor en comparación con el pan por extrusión, se observó que en su estudio tuvo una buena aceptación sensorial, lo que podría ser una ventaja para lo obtenido en esta investigación.

Asimismo, Guadarrama-Lezama et al. (2016) desarrollaron un pan con diferentes concentraciones de harina de maíz nixtamalizada comercial (MASECA) en donde el pan con 100 % de la harina tuvo valores parecidos para cohesividad con 0.29 y una masticabilidad y elasticidad mayor con un valor de 102.22 mJ y 7.43 mm, respectivamente.

La dureza indica la fuerza necesaria para lograr una deformación determinada. En los panes libres de gluten se relaciona con la retrogradación de las moléculas de amilosa y amilopectina y de la pérdida de agua de la miga a la corteza (Melini y Melini, 2018). En esta investigación se pudo observar que la dureza de los panes realizados con harinas extrudidas y por calentamiento óhmico fue mayor en comparación con el pan artesanal libre de gluten, sin embargo, la dureza fue menor con relación al pan realizado con harinas de proceso tradicional (frijol cocido tradicional y MASECA). El calentamiento óhmico y extrusión se han relacionado con la modificación de la estructura de almidón, el cual podría retener más agua y por ende menor pérdida de agua. Asimismo, se ha visto que la extrusión disminuye la retrogradación a corto plazo (An y King, 2007; Liu et al., 2019). La mayor dureza relacionada con el pan tradicional se puede atribuir a la pérdida de humedad, lo que se puede observar en el peso del pan que fue el que disminuyó más en comparación con el extrudido y por calentamiento óhmico.

Los panes comerciales libres de gluten están hechos con almidones modificados, los cuales se ha visto que reducen la dureza y masticabilidad, por lo que es favorecedor con respecto a los panes realizados en esta investigación (Ziobro *et al.*, 2012).

Por otro lado, la cohesividad se refiere a la fuerza de los enlaces internos que mantiene la estructura de un alimento y representa la resistencia de un material a una segunda deformación en relación a la primera (González et~al., 2015). Como se reportó en el Cuadro 9, la cohesividad de los panes por extrusión y calentamiento óhmico tuvo diferencia estadística ( $p \le 0.05$ ) con respecto al pan tradicional y al artesanal. En un pan se busca que la cohesividad sea alta, ya que cuando es alta se forma un "bolo" durante la masticación, al contrario de la baja cohesión indica que hay mayor probabilidad de que se fracture el pan (Onyango et~al., 2011). Se ha reportado que harinas extrudidas disminuyen la cohesividad en los panes (Martínez et~al., 2013), lo mismo que se observó en el pan extrudido de este estudio, con respecto al tradicional y artesanal. Sin embargo, tanto con la tecnología de extrusión como con el calentamiento óhmico la cohesividad fue mayor en comparación con la tradicional, lo cual es favorecedor ya que se fracturan menos. Este comportamiento se puede relacionar con el contenido del almidón.

La elasticidad es la capacidad de una muestra deformada en recuperar su forma inicial después de aplicar una fuerza sobre ella (González et~al., 2015). Los panes por extrusión, calentamiento óhmico y tradicional tuvieron diferencia significativa (p  $\leq$  0.05) en comparación con el artesanal. Este comportamiento se puede deber a una alta concentración de almidón (Onyango et~al., 2011), ya que en el artesanal es uno de sus principales ingredientes comparando con los otros panes realizados en este estudio.

Por último, el parámetro de masticabilidad indica la fuerza necesaria para masticar un alimento solido hasta un estado que permita su ingesta. La masticabilidad es el resultado de la dureza, cohesividad y elasticidad (González *et al.*, 2015).

### VI.5 Evaluación de calidad microbiológica del pan de caja

El Cuadro 10 muestra la calidad microbiológica de los diferentes panes de acuerdo a las Normas Oficiales Mexicanas para verificar si se cumple con las especificaciones del proceso de alimentos, en este caso los productos de panificación.

**Cuadro 10.** Estimación de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, mohos y levaduras de los panes de frijol y maíz, y pan artesanal.

Tratamiento	BMA (UFC/g)	CT (NMP/g)	<b>M</b> (UFC/g)	<b>L</b> (UFC/g)
PE	40	<10	<10	<10
PCO	15	<10	<10	<10
PT	55	<10	<10	<10
PA	380	<10	<10	430

BMA: Bacterias mesófilas aerobias, CT: Coliformes totales, M: Mohos, L: Levaduras

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

Según la NOM-247-SSA1-2008 los valores obtenidos para las BMA y los CT se encuentran dentro de los valores permitidos para el pan, los cuales señala que los límites máximos son 1000 UFC/g y <10 UFC, respectivamente. Las bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales son microorganismos utilizados como indicadores de calidad en los alimentos. Estos se asocian con la idoneidad de la materia prima, contaminación humana, violaciones a prácticas sanitarias de operación y distribución, entre otros (Fernández-Escartín, 2008). De acuerdo con los resultados obtenidos en todos los panes (pan con harinas por método de extrusión, pan con harinas por el método de calentamiento óhmico y pan con harinas por

método convencional/tradicional) se puede inferir que se utilizaron las buenas prácticas de manufactura al momento de la elaboración del pan, así como el cuidado de la materia prima.

# VI.6 Composición química y nutracéutica del pan de caja de frijol y maíz

### VI.6.1 Composición química del pan de caja

La composición química de un alimento aporta información nutricional y ayuda a clasificar que alimento o producto alimenticio tiene mayores nutrientes, que pudiesen favorecer en la salud nutricional. En el Cuadro 11 se muestra la composición química de los panes que fueron elaborados con harinas por calentamiento óhmico, extrusión y un método tradicional, así como un pan artesanal libre de gluten para hacer su comparación.

**Cuadro 11.** Composición química de panes elaborados con harinas obtenidas por extrusión, calentamiento óhmico, tratamiento tradicional y un pan artesanal.

Tratamiento	Humedad	Proteínas	Lípidos (%)	Cenizas	Carbohidratos
PE	44.28 ± 2.74 <sup>a</sup>	$3.04 \pm 0.60^{a}$	18.51 ± 1.06 <sup>a</sup>	3.59 ±0.01 <sup>b</sup>	31.13 ± 2.70 <sup>ab</sup>
PCO	44.94± 2.40 <sup>a</sup>	$4.00 \pm 0.006^{a}$	17.75 ± 0.92 <sup>a</sup>	3.76 ±0.005 <sup>a</sup>	29.61 ± 3.85 <sup>ab</sup>
PT	46.06 ± 2.18 <sup>a</sup>	$3.44 \pm 0.002^{a}$	18.70 ± 0.14 <sup>a</sup>	3.54 ±0.008 <sup>c</sup>	28.24 ± 2.32 <sup>b</sup>
РА	43.08 ± 2.74 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.12 <sup>b</sup>	11.82 ± 0.17 <sup>b</sup>	2.30 ±0.01 <sup>d</sup>	40.55 ± 2.40 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas ( $p \le 0.05$ ) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

Los valores del porcentaje de humedad obtenidos concuerdan con lo reportado por Turkut et al. (2016) el cual fue de 44.3 %, en donde elaboraron pan libre de gluten a base de quinoa. Asimismo, los valores obtenidos por Ouazib et al. (2016) en donde utilizaron garbanzo para el desarrollo de un pan, son mayores en cuanto a proteína (8.66 %) y humedad (60.58 %). Mientras que, para lípidos (4.41 %), ceniza (1.35 %) y carbohidratos (25 %) fue menor.

El alto contenido de humedad se puede deber a que se ha reportado que, para la elaboración de panes libres de gluten, requieren mayor cantidad de agua (90-110 %) del total de la formulación, en comparación con un pan elaborado con harinas con gluten para que la miga del pan mejore y el pan esté más suave (Melini *et al.*, 2017). Ese aumento de agua también se puede atribuir al contenido de proteínas (mayormente solubles) y polisacáridos sin almidón de la materia prima (Rostamian *et al.*, 2014). De la Hera et al. (2014) realizaron un estudio en donde concluyeron que una baja hidratación de la masa en panes libres de gluten, limita la gelatinización de almidón y eso dificulta la digestibilidad del almidón *in vitro*.

En lo referente al contenido de proteína, se observó una diferencia significativa (p ≤ 0.05) entre los panes que fueron realizados con frijol y maíz y el pan artesanal el cual era una mezcla de ingredientes de almidones, harinas de arroz y amaranto. Se reporta hasta cuatro veces más de aporte de proteína en los panes de frijol y maíz respecto al artesanal. Esto se puede deber al origen de la materia prima, en donde el frijol aporta una gran cantidad de proteína, casi el doble que lo que aporta el maíz (Ver en Cuadro 2). La disminución de proteína en los diferentes panes de frijol y maíz con respecto al contenido presente en las harinas, se puede atribuir a que se sometió a un calentamiento en el horneado de 200 °C lo que pudo provocar reacciones químicas como Maillard, la cual se ha reportado que causa pérdida de valor nutricional principalmente en las proteínas, debido a la destrucción o inactivación biológica de aminoácidos esenciales como lisina y triptófano (Martins *et al.*, 2000). De igual manera, se han realizado diferentes estudios donde han demostrado que a temperaturas de 100-200 °C conducían a estas pérdidas de proteína (Finot, 2005).

Asimismo, se observó una diferencia significativa (p ≤ 0.05) en el contenido de lípidos en los panes de frijol y maíz comparado con el pan artesanal. Esto se puede deber a que dentro de los ingredientes de la formulación se utilizó aceite, utilizando una porción que no afectara la calidad en cuanto a la textura como dureza, cohesividad y elasticidad (Mancebo *et al.*, 2017). A pesar de tener un alto aporte de lípidos comparado con otros panes o el artesanal, las grasas aportadas son monoinsaturadas debido a que se utilizó aceite de oliva, además de los lípidos aportados por el frijol y el maíz. Se ha reportado que los ácidos grasos monoinsaturados tienen efectos antiinflamatorios, siendo un beneficio para la salud (Ravaut *et al.*, 2021).

La diferencia encontrada entre el porcentaje de cenizas de los diferentes panes, principalmente entre los de frijol y maíz, y el artesanal, se puede atribuir al residuo inorgánico reportado que presenta cada alimento, el cual se sabe que el frijol tiene alrededor del 4 %, lo cual podría elevar el contenido en comparación con los ingredientes contenidos en el pan artesanal (Pomeranz y Meloan, 1994).

Debido a que el porcentaje de carbohidratos fue determinado como la diferencia dada por los otros componentes de la composición química, se encuentra diferencia significativa ( $p \le 0.05$ ) entre los panes de frijol y maíz con respecto al artesanal, el cual tuvo menor contenido de proteína y lípidos, lo cual aumenta su porcentaje de carbohidratos. Entre los panes de frijol y maíz, no se encontró diferencia estadística entre las tecnologías u sadas para la obtención de las harinas y la elaboración del pan.

## VI.6.2 Composición nutraceútica del pan de caja

Un alimento nutracéutico es aquel que se ha comprobado tener compuestos bioactivos tales como los compuestos fenólicos que tienen un efecto beneficioso para

la salud. En el Cuadro 12 se puede observar el contenido de fenoles totales, flavonoides y taninos condensados de los diferentes panes.

**Cuadro 12.** Contenido de fenoles totales, flavonoides y taninos condensados de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.

	Fenoles totales	Flavonoides	Taninos condensados
Tratamiento	(mg eq. de ácido gálico/g de muestra seca)	(mg eq. de rutina /g de muestra seca)	(mg eq. (+) catequina /g de muestra seca)
PE	0.64 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.23 ± 0. 10 <sup>a</sup>	$3.05 \pm 0.88^{a}$
PCO	$0.92 \pm 0.06^{a}$	$0.09 \pm 0.01^{a}$	$2.67 \pm 0.48^{a}$
PT	0.66 ± 0.27 <sup>a</sup>	$0.12 \pm 0.02^{a}$	2.85 ± 1.20 <sup>a</sup>
PA	0.16 ± 0.05 <sup>b</sup>	$0.07 \pm 0.01^{a}$	1.68 ± 0.08 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

Cuellar-Núñez (2014) elaboró una botana a base de frijol y maíz, la cual reportó cantidades menores de fenoles totales y flavonoides con un valor de 0.17 mg eq. de ácido ferúlico/g de muestra y 0.05 mg eq. de rutina/g de muestra, respectivamente. Por otro lado, los taninos condensados encontrados en la botana fueron mayores a los de este estudio el cual fue de 6.25 mg eq. de (+) catequina/g de muestra.

En esta investigación, se encontró diferencia estadística (p ≤ 0.05) entre los fenoles totales de los panes de frijol y maíz en relación con el pan artesanal. Esta diferencia puede estar relacionada con el contenido del frijol y maíz, ya que se ha reportado que son fuentes de compuestos fenólicos (Chávez-Mendoza & Sánchez, 2017). Se puede observar que, entre tecnologías para la obtención de harinas, las que fueron utilizadas para elaborar el pan, no tuvieron un efecto en el contenido de

fenoles totales. Dentro del contenido de flavonoides y taninos condensados no se encontró diferencia ( $p \ge 0.05$ ) entre los panes.

Se puede observar una disminución de compuestos fenólicos con respecto a materia prima y con la literatura, esto se puede deber a que, como se mencionó en el apartado de caracterización de compuestos fenólicos de harinas de frijol, al usarse un frijol HTC puede contener niveles bajos de estos compuestos debido a la presencia de polímeros insolubles con un alto peso molecular (Martín -Cabrejas *et al.*, 1997). Asimismo, al ser compuestos termosensibles, durante el horneado (200 °C) estos pudieron disminuir.

Sin embargo, al ser fuentes de compuestos fenólicos el frijol y maíz, podrían sugerirse como ingredientes importantes en el desarrollo de productos en la industria de alimentos, en este caso, en el pan. Es así que tendría un papel importante en la nutrición humana, por lo que enriquecer su valor nutraceútico sería un beneficio a la salud de sus consumidores. Como se observó en el Cuadro 12, los panes realizados en esta investigación tienen concentraciones mayores de compuestos fenólicos en comparación con el pan artesanal comercial. No obstante, se tendría que evaluar la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de esos compuestos para evaluar que tanto beneficio tendrían.

Posteriormente, se procedió a evaluar la capacidad antioxidante de los panes (Cuadro 13) elaborados con harinas de frijol y maíz por el método de extrusión, calentamiento óhmico y método tradicional, así como de un pan artesanal para compararlos, con el objetivo de valorar cual de todos los panes tiene la mayor capacidad antioxidante que pueda aportar un beneficio a la salud, debido a los antioxidantes presentes en ellos.

**Cuadro 13.** Capacidad antioxidante de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.

Tratamiento	DPPH	ABTS
i i atamiento	(µmoles eq. de Trolox	x/g de muestra seca)
PE	1777.12 ± 214.88 <sup>a</sup>	4071.85 ± 295.45 <sup>a</sup>
PCO	2118.25 ± 293.09 <sup>a</sup>	2939.11 ± 453.57 <sup>ab</sup>
PT	1711.23 ± 490.95 <sup>ab</sup>	2849.10 ± 918.70 <sup>ab</sup>
PA	784. 91 ± 288.58 <sup>b</sup>	$1954.83 \pm 406.95^{b}$

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar, expresados en base seca. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

La capacidad antioxidante encontrada en los panes fue menor para el pan artesanal en contraste con el pan que fue realizado con harinas extrudidas ( $p \le 0.05$ ). Además, se puede observar que no hubo diferencia significativa entre las tecnologías.

De acuerdo con la capacidad antioxidante observada entre la materia prima (Cuadro 4) y los panes, no se observa un decremento muy notable, podría atribuirse a que, dentro de los ingredientes utilizados para el desarrollo del pan se encuentra el aceite de oliva, el cual se ha reportado que contiene antioxidantes como hidroxitirosol que mejoran la estabilidad oxidativa, previniendo la propagación de la peroxidación lipídica (Carrasco-Pancorbo *et al.*, 2005). Además, se ha reportado que dentro de los componentes del aceite de oliva que aportan capacidad antioxidante, se encuentra el α-tocoferol, el cual no pertenece al grupo de compuestos fenólicos, sin embargo, se ha demostrado su capacidad para la eliminación de radicales. Asimismo, en este trabajo no se realizó la técnica indicada para la determinación de α-tocoferol, por ejemplo, utilizando HPLC (Ambra *et al.*, 2017; Diekempet *et al.*, 2021) la cual pudo servir para demostrar la capacidad antioxidante de los diferentes panes.

Por otro lado, existe mucha literatura científica que avala la importancia biológica de la fibra en la dieta y en la nutrición humana, la cual se ha relacionado con la disminución en la absorción de glucosa en sangre y ácidos biliares, con efectos positivos contra enfermedades como la cardiovascular. El Cuadro 14 se muestra el contenido de fibra total, insoluble y soluble, así como almidón resistente de los diferentes panes.

**Cuadro 14.** Contenido de fibra dietaria total, soluble e insoluble de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.

Tratamiento	Fibra total	Fibra insoluble	Fibra soluble (%)	Almidón resistente
PE	8.33 ± 0.44 <sup>ab</sup>	7.59 ± 0.36 <sup>a</sup>	0.94 ± 0.41 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>b</sup>
PCO	8.58 ± 0.16 <sup>a</sup>	7.79 ±0.06 <sup>a</sup>	$0.78 \pm 0.09^{a}$	$0.17 \pm 0.06^{b}$
PT	7.47 ± 0.11 <sup>b</sup>	$6.83 \pm 0.006^{b}$	$0.64 \pm 0.10^{a}$	$0.68 \pm 0.02^{a}$
PA	5.98 ± 0.10 <sup>c</sup>	$5.31 \pm 0.10^{c}$	$0.78 \pm 0.24^{a}$	ND

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

ND: No detectable

Diversos estudios han atribuido un beneficio a la salud al consumir fibra, por ejemplo, efectos en la pérdida de peso, prevención de diabetes y cáncer colorrectal, así como enfermedades cardiovasculares (Wilson *et al.*, 2020). Acorde al Cuadro 14, se observa que hubo una diferencia significativa (p ≤ 0.05) en donde la fibra total e insoluble fue mayor, entre los panes que fueron realizados con harinas extrudidas y por óhmico en comparación con el pan que fue elaborado con harinas por un tratamiento tradicional, así como, con el pan artesanal. Esa diferencia se puede atribuir a que el efecto del uso de las tecnologías como la extrusión reporta una

redistribución parcial o completa de la fibra, además, el procesamiento por extrusión y calentamiento óhmico permite dejar la parte del pericarpio del maíz la cual aporta fibra (Ramírez-Jiménez et al.,2019; Garcia-Amezquita et al., 2020). Por otro lado, con base en la literatura se tiene evidencia de que las leguminosas tienen más cantidad de fibra en comparación de harinas refinadas o los cereales. Se ha reportado que la extrusión aumenta la fibra insoluble con respecto a la fibra soluble, lo cual se puede atribuir al contenido de almidón resistente, debido a la gelatinización del almidón y a la formación de complejos polisacárido-proteína medidos como lignina (Cotacallapa-Sucapuca et al., 2021).

Una rebanada de 30 g de pan de caja de frijol y maíz por los métodos de calentamiento óhmico y extrusión aportarían aproximadamente 2.5 g de fibra dietaria total siendo un 8.5 % del total de lo recomendado que son 30 g (Almeida-Alvarado *et al.*, 2014). De acuerdo al Codex Alimentario, no se considera un alimento con bajo aporte de fibra (<5% de fibra), además que, si se compara con el pan tradicional y el artesanal, incluso con los comerciales libres de gluten que se encuentran en el mercado (2 g), sería mayor su aporte de fibra.

La diferencia significativa del almidón resistente entre las tecnologías de calentamiento óhmico y extrusión con respecto a las harinas obtenidas por tratamiento tradicional se puede deber a que se ha reportado que en las leguminosas que se cocinan hirviendo tienen una gelatinización más uniforme y completa, en comparación con otros métodos como el cocimiento a presión (Singh *et al.*, 2017).

### VI.7 Digestibilidad in vitro de carbohidratos del pan de caja

Los carbohidratos son la principal fuente de energía de la dieta y el almidón representa la reserva de energía en las plantas (Maniglia et al., 2021). En un individuo monogástrico, incluido el humano la digestión del almidón se lleva a cabo en el intestino delgado. La velocidad de digestión del almidón es importante ya que, el grado en que la carga de glucosa en la sangre aumenta, va a incrementar la intensidad de la respuesta de la insulina necesaria para disminuir la sobrecarga de

glucosa y mantener la glicemia normal (Mishra *et al.*, 2012). En el Cuadro 15 se presenta el contenido de almidón total, almidón disponible, así como, digesti bilidad *in vitro* de carbohidratos de los diferentes panes.

**Cuadro 15.** Contenido de almidón total y disponible, y digestibilidad *in vitro* de carbohidratos de panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.

Tratamiento	Almidón total	Almidón disponible	Digestibilidad <i>in vitro</i> de carbohidratos
PE	$6.90 \pm 0.73^{a}$	$3.78 \pm 0.26^{a}$	56.20 ± 1.65 <sup>a</sup>
PCO	$5.97 \pm 0.30^{a}$	3.11 ± 0.17 <sup>b</sup>	$52.02 \pm 0.71^{b}$
PT	$6.08 \pm 0.29^{a}$	$3.01 \pm 0.20^{b}$	$49.55 \pm 0.99^{b}$
PA	$6.26 \pm 0.55^{a}$	$3.20 \pm 0.31^{ab}$	$51.13 \pm 0.43^{b}$

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

De acuerdo con la diferencia estadística (p ≤ 0.05) encontrada en el aumento de almidón disponible en el pan por el método de extrusión puede atribuirse a que, con la extrusión se da un aumento en la disponibilidad de carbohidratos presentes en el interior de la célula, lo que conlleva un aumento de la superficie a través de la rotura celular y una mayor porosidad de la pared celular (Cotacallapa-Sucapuca *et al.*, 2021). Así mismo, en la digestibilidad *in vitro* de carbohidratos se puede observar una diferencia significativa entre las tecnologías usadas para la obtención de harinas en donde extrusión tuvo el mayor valor. Este fenómeno se puede deber a que la cocción por extrusión da como resultado la gelatinización del almidón total o parcial. Se ha reportado que la digestibilidad del almidón puede aumentar elevando la temperatura de extrusión, mejorando la gelatinización del mismo. Además, la cocción por extrusión provoca una ruptura de la amilosa y, en particular, de las moléculas de

amilopectina inducida por el cizallamiento, lo que da como resultado fragmentos más pequeños y más digeribles (Pasqualone *et al.*, 2020).

### VI.8 Digestibilidad in vitro de proteínas del pan de caja

Para evaluar el valor nutritivo de las proteínas, se puede realizar una digestibilidad de proteína *in vitro* a un alimento. En el Cuadro 16 se encuentra la digestibilidad *in vitro* de proteínas de los diferentes panes y un control, el cual fue la caseína. Esta digestibilidad se realizó con el fin de medir el aprovechamiento de la proteína presente en el pan.

**Cuadro 16.** Digestibilidad *in vitro* de proteínas panes de frijol y maíz con harinas por extrusión y calentamiento óhmico, método de cocción tradicional y pan artesanal.

Tratamiento	Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteínas (%)		
PE	70.36 ± 2.28 <sup>cd</sup>		
PCO	68.49 ± 0.34 <sup>d</sup>		
PT	71.41 ± 1.15 <sup>c</sup>		
PA	78.91 ± 0.95 <sup>b</sup>		
Caseína	96.57 ± 1.43 <sup>a</sup>		

Cada valor representa la media de 3 réplicas  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras minúsculas en la misma columna expresan diferencias significativas (p  $\leq$  0.05) en la prueba de Tukey.

PE: Pan elaborado con harina sometida a extrusión, PCO: Pan elaborado con harina sometida a calentamiento óhmico, PT: Pan elaborado con harina sometida a método tradicional, PA: Pan artesanal.

La digestibilidad de la proteína depende de la conformación, estructura y grado de hidrólisis de la proteína. De acuerdo al valor obtenido en la digestibilidad de proteínas para los panes de frijol y maíz, concuerda con lo reportado por la literatura para los alimentos de origen vegetal que es de alrededor del 70 %. Incluso, fue mayor de acuerdo con lo reportado por otros autores que realizaron panes libres de gluten que fue del 60 %, elaborado con harina de arroz y soya, almidón de yuca y fibras (Sciarini et al., 2017). Esto podría ser un beneficio ya que, se aprovecha de una mejor

manera la proteína influyendo de una manera positiva en el estado nutricional de las personas que lo consumen.

Dentro del porcentaje de la digestibilidad *in vitro* de proteínas, las tecnologías utilizadas para la obtención de harinas y el desarrollo del pan, no tuvieron diferencia entre ellas, solo entre el tratamiento tradicional y por calentamiento óhmico, sin embargo, calentamiento óhmico y extrusión no tuvieron diferencia significativa (p ≥ 0.05). Al aplicar un calentamiento a las leguminosas con cualquiera de los métodos utilizados, disminuyen factores antinutricionales presentes en la semilla que repercuten en las proteínas aumentando su digestibilidad. Se ha reportado que la extrusión promueve un aumento en el contenido de aminoácidos y la digestibilidad de proteínas (Cotacallapa-Sucapuca *et al.*, 2021). Asimismo, los cambios en la digestibilidad se deben a interacciones dadas por efectos como temperatura, humedad, tornillo y barril. Esta digestibilidad se puede ver afectada por la interacción de las proteínas alteradas con otros componentes como azúcares (Zhang *et al.*, 2017).

Por otro lado, la diferencia encontrada entre los panes de maíz y frijol sobre el pan artesanal, se puede deber a que, el pan artesanal no tenía una leguminosa como parte de sus ingredientes, las cuales tienen compuestos bioactivos que se ha visto que repercuten en la digestibilidad de proteínas, si es que no se aplica un calentamiento adecuado.

Jire cilor

### CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en relación a la composición química y nutracéutica de las harinas de frijol y maíz, sugieren que la tecnología de calentamiento óhmico afecta en menor proporción el contenido de proteína, fenoles totales y capacidad antioxidantes que el método de extrusión, lo cual es un beneficio desde el punto de vista tecnológico y nutricional para el desarrollo del pan de caja.

Se logró el desarrollo de un pan de caja a base de harinas de frijol y maíz obtenidas mediante tecnologías de calentamiento óhmico y extrusión. En ese sentido dentro de las pruebas físicas del pan:

- Las harinas obtenidas por calentamiento óhmico empleadas en la elaboración de panes, incrementaron la altura del pan con respecto a los panes elaborados con harinas sometidas a extrusión y a un método tradicional.
- Los panes preparados con harinas sometidas a extrusión y calentamiento óhmico tienen un efecto beneficioso reduciendo la dureza y aumentando la cohesividad del producto.

Dentro del aporte nutricional del pan de caja, este contiene hasta cuatro veces más de proteína, en contraste con el pan artesanal comercial libre de gluten. Asimismo, se observó que la digestibilidad *in vitro* de proteínas no tiene diferencia significativa entre las tecnologías de extrusión y calentamiento óhmico.

Para el aporte nutracéutico, el pan de caja contiene más compuestos fenólicos y aporta mayor capacidad antioxidante respecto al pan comercial artesanal libre de gluten. En el aporte de fibra total fue mayor usando harinas que fueron sometidas a calentamiento óhmico, respecto al método tradicional y al pan comercial artesanal libre de gluten.

En conclusión, las tecnologías emergentes de extrusión y calentamiento óhmico tienen ventaja en lo referente a la funcionalidad tecnológica, nutricional y ambiental con respecto a una tecnología tradicional para obtener harinas y desarrollar un pan de caja. Dentro de estas tecnologías, calentamiento óhmico podría ser una opción viable ya que mostró tener mejores resultados en la composición química y nutraceútica en las harinas. Por otro lado, al usar frijol y maíz como ingredientes principales para la elaboración del pan, favorece el aporte nutricional y nutracéutico respecto a un pan libre de gluten que se encuentra en el mercado, siendo así una oportunidad en la innovación y tecnología de alimentos libres de gluten, y beneficiar a las personas que presentan intolerancia al gluten, enfermedad celiaca, contribuyendo en su estado nutricional, e inclusive para la comunidad vegana. or contraction contractions of the contraction contraction contraction contractions of the contraction contraction

### **BIBLIOGRAFÍA**

- AACC (2001). Métodos de análisis aprobados, 11ª ed. Método 10–05.01, Directrices para la medición del volumen por desplazamiento de la colza. Asociación de cereales y granos, St. Paul, MN, EE. UU.
- Aamir, M., & Jittanit, W. (2017). Ohmic heating treatment for Gac aril oil extraction: Effects on extraction efficiency, physical properties and some bioactive compounds. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *41*, 224-234.
- Abeykoon, C. (2016). Single screw extrusion control: A comprehensive review and directions for improvements. *Control Engineering Practice*, 51, 69-80.
- Ai, Y., & Jane, J. L. (2016). Macronutrients in corn and human nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 581-598.
- Akillioglu, H. G., & Karakaya, S. (2010). Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 633-639.
- Alam, M. S., Kaur, J., Khaira, H., & Gupta, K. (2016). Extrusion and extruded products: changes in quality attributes as affected by extrusion process parameters: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(3), 445-473.
- Almeida-Alvarado, S. L., Aguilar-López, T., & Hervert-Hernández, D. (2014, June). La fibra y sus beneficios a la salud. In *Anales Venezolanos de Nutrición* (Vol. 27, No. 1, pp. 73-76). Fundación Bengoa.
- Ambra, R., Natella, F., Lucchetti, S., Forte, V., & Pastore, G. (2017). α-Tocopherol, β-carotene, lutein, squalene and secoiridoids in seven monocultivar Italian extra-virgin olive oils. *International journal of food sciences and nutrition*, *68*(5), 538-545.
- An, H. J., & King, J. M. (2007). Thermal characteristics of ohmically heated rice starch and rice flours. *Journal of food Science*, 72(1), C084-C088.
- Ao, Z., Simsek, S., Zhang, G., Venkatachalam, M., Reuhs, B. L., & Hamaker, B. R. (2007). Starch with a slow digestion property produced by altering its chain

- length, branch density, and crystalline structure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4540-4547.
- AOAC. (2002). Official methods of analysis (Vol. 222). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). Maize, *Cereal grains for the food and beverage industries* (pp. 67-104). Woodhead Publishing.
- Ashraf, S., Sofi, S. A., Muzaffar, K., Majid, D., & Kour, J. (2021). Nutritional Quality of Gluten-Free Breads. In *Gluten-free Bread Technology* (pp. 89-99). Springer, Cham.
- Ávalos A., & Pérez-Urria Carril, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2(3).
- Balandran-Quintana, R. R., Barbosa-Canovas, 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.
- Balint, G. A. (2000). Ultrastructural study of liver cell damage induced by ricin. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 52, 413–417.
- Betrán, F. J., Bockholt, A. J., & Rooney, L. W. (2000). Blue corn. *Specialty corns* (pp. 305-314). CRC Press.
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J. L., Hollis, J., Li, L., & Schalinske, K. (2013). Resistant starch: promise for improving human health. *Advances in Nutrition*, *4*(6), 587-601.
- Brune, M., Rossander, L., & Halberg, L. (1989). Iron absorption and phenolic compounds: Importance of different phenolic structures. *European Journal of Clinical Nutrition*, 43, 547–558.

Camargo, K.M., Alves, S.C., Martins, A.A.O., & Vessoni, T.Ch.P. (2010). Ohmic heating a review. *Trends in Food ScienceTechology*, 21, 436–441.

Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., & Oomah, B. D. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43, 461–482.

Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Pedraza-Aboytes, G., Acosta-Gallegos, J. A., Guzmán-Maldonado, S. H., Paredes-López, O., & Loarca-Piña, G. (2009). Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science*, 74(7), T59-T65.

Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Oomah, B.D. (2002). Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975-6980.

Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Del Carlo, M., Gallina-Toschi, T., & Fernandez-Gutierrez, A. (2005). Evaluation of the antioxidant capacity of individual phenolic compounds in virgin olive oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 8918-8925.

Castro, C. M. E., Torres-Chávez, P. I., Ramírez-Wong, B., Ledezma-Osuna, A. I., Quintero-Ramos, A., López-Cervantes, J., & Silvas-García, M. I. (2017). Physicochemical and Rheological Changes of Starch in Nixtamalization Processes: Extrusion as an Alternative to Produce Corn Flour. In *Extrusion of Metals, Polymers and Food Products*. IntechOpen.

Catassi, C., Fabiani, E., Iacono, G., D'Agate, C., Francavilla, R., Biagi, F., & Pianelli, G. (2007). A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *85*(1), 160-166.

Catassi, C., Gatti, S., & Fasano, A. (2014). The new epidemiology of celiac disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 59, S7-S9.

Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from Mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22(8), 1360.

Cobos-Quevedo, O., Hernández-Hernández, G. A., & Remes-Troche, J. M. (2017). Trastornos relacionados con el gluten: Panorama actual. *Medicina Interna de México*, 33(4), 487-502.

Consumo de Pan en México. (2020). El Pan Del Mundo, (1405-1427 W), 23–26. Disponible en: http://www.canainpa.com.mx/lmagenes/rev\_pan/revista.pdf

Contreras-Jiménez, B., Morales-Sanchez, E., Reyes-Vega, M. L., & Gaytán-Martínez, M. (2014). Propiedades funcionales de harinas de maíz nixtamalizado obtenidas por extrusión a baja temperatura. *CyTA-Journal of Food*, 12(3), 263-270.

Cornejo, F., & Rosell, C. M. (2015). Physicochemical properties of long rice grain varieties in relation to gluten free bread quality. *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 1203-1210.

Costa, G. E. A., Queiroz-Monici, K. S., Reis, S. M. P. M. & Oliveira, A. C. (2006). Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94, 327–330.

Cotacallapa-Sucapuca, M., Vega, E. N., Maieves, H. A., Berrios, J. D. J., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2021). Extrusion Process as an Alternative to Improve Pulses Products Consumption. A Review. *Foods*, *10*(5), 1096.

Cuellar-Nuñez, M. L. (2014). Desarrollo, evaluación nutrimental y nutracéutica de una botana horneada a partir de harina de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado y frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocido. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

De La Hera, E., Rosell, C. M., & Gomez, M. (2014). Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. *Food chemistry*, *151*, 526-531.

De la Parra, C., Serna Saldivar, S. O., & Liu, R. H. (2007). Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas, and tortilla chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4177-4183.

Decher N., Krenitsk & Joseph S. (2013). Tratamiento nutricional médico en los trastornos intestinales. Krause Dietoterapia 610-644. Elsevier España, S.L.

Díaz-Batalla, L., Widholm, J. M., Fahey, G. C., Castaño-Tostado, E., & Paredes-López, O. (2006). Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2045-2052.

Diekemper, D., Pölloth, B., & Schwarzer, S. (2021). From Agricultural Waste to a Powerful Antioxidant: Hydroxytyrosol as a Sustainable Model Substance for Understanding Antioxidant Capacity. *Journal of Chemical Education*, 98(8), 2610-2617.

Du, S. K., Jiang, H., Yu, X., & Jane, J. L. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT-Food Science and Technology*, *55*(1), 308-313.

El Khoury, D., Balfour-Ducharme, S., & Joye, I. J. (2018). A review on the gluten-free diet: technological and nutritional challenges. *Nutrients*, *10*(10), 1410.

Elizalde A.D.D., Porrilla Y.P., & Chaparro D.C.C. (2009) Factores antinutricionales en semillas [Antinutritional factors in eatable sedes] *Biotecnología* en el Sector Agropecuario y. Agroindustrial, 7, 45–54.

Fernández-Escartín, E. (2008). Microorganismos de interés sanitario. *Microbiología e inocuidad de los alimentos* (1-40). 2ª ed, Universidad Autónoma de Querétaro.

Farooq, Z., & Boye, J. I. (2011). Novel food and industrial applications of pulse flours and fractions. *Pulse foods: Processing, quality and nutraceutical applications*, 283-323.

Fasano A, Sapone A., Zevallos V., & Schuppan D. (2015). Non celiac gluten sensitivity. Gastroenterology ,148(6), 1195-204.

Feregrino-Pérez, A. A., Berumen, L. C., García-Alcocer, G., Guevara-Gonzalez, R. G., Ramos-Gomez, M., Reynoso-Camacho, R., & Loarca-Piña, G. (2008). Composition and chemopreventive effect of polysaccharides from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) on azoxymethane-induced colon cancer. *Journal of agricultural and food chemistry*, *56*(18), 8737-8744.

Ferreira, D., & Li, X. C. (2000). Oligomeric proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles. *Natural product reports*, 17(2), 193-212.

Finot, P. A. (2005). Historical perspective of the Maillard reaction in food science. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1043*(1), 1-8.

Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3597–3604.

Garcia-Amezquita, L. E., Tejada-Ortigoza, V., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2020). Extraction and Modification of Dietary Fiber Applying Thermal Processes. In *Science and Technology of Fibers in Food Systems* (pp. 329-342). Springer, Cham.

García-Mier L. (2009). Contenido total de taninos condensados en las variedades Pinto Zapata Azufrado Higuera, Negro 8025 y Bayo Madero de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocidas por calentamiento óhmico. Tesis de maestría en Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional. Querétaro, México.

García-Mier, L., Morales-Sánchez, E., Reyes-Vega, M. L., Loarca-Piña, F. G., González-Jasso, E., Gaytán-Martínez, M., & de la Cruz, G. V. (2012). Ohmic Heating Effect in the Condensed Tannins Content of *Phaseolus vulgaris* L. *Food Science and Food Biotechnology Essentials: A Contemporary Perspective*, 295.

Gautam, A. K., Shrivastava, N., Sharma, B., & Bhagyawant, S. S. (2018). Current scenario of legume lectins and their practical applications. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, *21*(3), 217-227.

- Gaytán-Martínez, M., Figueroa, J. D. C., Vazquez-Landaverde, P. A., Morales-Sanchez, E., Martínez-Flores, H. E., & Reyes-Vega, M. L. (2012). Caracterización fisicoquímica, funcional y química de harinas nixtamalizadas de maíz obtenidas por calentamiento óhmico y proceso tradicional. *CyTA-Journal of Food*, 10(3), 182-195.
- Glissen B., J. R., & Singh, P. (2019). Coeliac disease. *Paediatrics and international child health*, 39(1), 23-31.
- González, J. D. T., Morelos, K. J. G., & Correa, D. A. (2015). Análisis del perfil de textura en frutas, productos cárnicos y quesos. *ReCiTeIA*, 14(2), 64-74.
- Goullieux, A., & Pain, J. P. (2014). Ohmic heating. *In Emerging Technologies for Food Processing* (pp. 399-426). Academic Press.
- Grant, G., Alonso, R., Edwards, J. E., & Murray, S. (2000). Dietary soya beans and kidney beans stimulate secretion of cholecystokinin and pancreatic digestive enzymes in 400-day-old Hooded-Lister rats but only soya beans induce growth of the pancreas. *Pancreas*, 20, 305–312.
- Grela, E. R., Samolińska, W., Kiczorowska, B., Klebaniuk, R., & Kiczorowski, P. (2017). Content of minerals and fatty acids and their correlation with phytochemical compounds and antioxidant activity of leguminous seeds. *Biological trace element research*, 180(2), 338-348.
- Gu, B. J., Masli, M. D. P., & Ganjyal, G. M. (2020). Whole faba bean flour exhibits unique expansion characteristics relative to the whole flours of lima, pinto, and red kidney beans during extrusion. *Journal of food science*, *85*(2), 404-413.
- Guadarrama-Lezama, A. Y., Carrillo-Navas, H., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2016). Rheological and thermal properties of dough and textural and microstructural features of bread obtained from nixtamalized corn/wheat flour blends. *Journal of Cereal Science*, *69*, 158-165.
- Guajardo-Flores D., García-Patiño M., Serna-Guerrero D., Gutiérrez-Uribe J.A., & Serna-Saldívar S.O. (2012) Characterization and quantification of saponins and flavonoids in sprouts, seed coats and cotyledons of germinated black beans. *Food Chemistry*, 134, 1312–1319.

Guzmán-Maldonado, S. H., Vázquez-Carrillo, M., Aguirre-Gómez, J. A., & Serrano-Fujarte, I. (2015). Contenido de ácidos grasos, compuestos fenólicos y calidad industrial de maíces nativos de Guanajuato. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(2), 213-222.

Hall, C., Hillen, C., & Garden Robinson, J. (2017). Composition, nutritional value, and health benefits of pulses. *Cereal Chemistry*, *94*(1), 11-31.

Harper, J. M. (2019). Extrusion of foods (Vol. 1). CRC press.

Harrabi, S., St Amand, A., Sakouhi, F., Sebei, K., Kallel, H., Mayer, P, & Boukhchina, S. (2008). Phytostanols and phytosterols distributions in comkernel. *Food Chemistry*, 111, 115–120.

Herawati, H. (2019). Hydrocolloids to the effects of gluten free bakery products. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1295, No. 1, p. 012052).

Hernández-Aguilar, C., Dominguez-Pacheco, A., Tenango, M. P., Valderrama-Bravo, C., Hernández, M. S., Cruz-Orea, A., & Ordonez-Miranda, J. (2019). Lentil sprouts: a nutraceutical alternative for the elaboration of bread. *Journal of food science and technology*, 1-13.

Horstmann, S. W., Belz, M. C., Heitmann, M., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2016). Fundamental study on the impact of gluten-free starches on the quality of gluten-free model breads. *Foods*, *5*(2), 30.

Hossain, F., Muthusamy, V., Bhat, J. S., Jha, S. K., Zunjare, R., Das, A., & Kumar, R. (2016). Maize. In *Broadening the Genetic Base of Grain Cereals* (pp. 67-88). Springer, New Delhi.

Hsu, H. W., vavak, D. L., satterlee, L. D., & miller, G. A. (1977). A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*, *42*(5), 1269–1273.

Huber K., Brigide P., Bretas E.B., & Canniatti-Brazaca S.G. (2016) Phenolic Acid, Flavonoids and Antioxidant Activity of Common Brown Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Before and After Cooking. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 6.

- Jang, S. H., Lim, J. W., & Kim, H. (2009). Mechanism of β-carotene-induced apoptosis of gastric cancer cells: Involvement of ataxia-telangiectasia-mutated. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1171(1), 156.
- Kibar, H., & Kibar, B. (2019). Changes in some nutritional, bioactive and morpho-physiological properties of common bean depending on cold storage and seed moisture contents. *Journal of Stored Products Research*, *84*, 101531.
- Kim, M., Yun, Y., & Jeong, Y. (2015). Effects of corn, potato, and tapioca starches on the quality of gluten-free rice bread. *Food Science and Biotechnology*, 24(3), 913-919.
- Korus, J., Gumul, D., Folta, M., & Barton, H. (2007). Antioxidant and antiradical activity of raw and extruded common beans. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, *10*(4), 1-10.
- Kourkouta, L., Koukourikos, K., Iliadis, C., Ouzounakis, P., Monios, A., & Tsaloglidou, A. (2017). Bread and health. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5, 821-826.
- Lee, S. O., Simons, A. L., Murphy, P. A., & Hendrich, S. (2005). Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Experimental Biology and Medicine*, 230(7), 472-478.
- Lehmann U., & Robin F. (2007) Slowly digestible starch e its structure and health implications: a review, *Trends in Food Science and Technology*. 18 (7), 346-355.
- Length, F. (2014). Chemical and nutritional value of maize and maize products obtained from selected markets in Kaduna. *African Journal of Food Science and Technology*, 5, 100–104.
- Leonard, W., Zhang, P., Ying, D., & Fang, Z. (2020). Application of extrusion technology in plant food processing byproducts: An overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(1), 218-246.

- Lépiz, R. (1974). "Asociación de cultivos maíz-frijol". Folleto Técnico núm. 58. SAG-INIA, México.
- Lima-Becerra, I.I. (2020). Calentamiento óhmico como herramienta para el mejoramiento de las propiedades tecno-funcionales de harina de frijol. Tesis de Ingeniería en Químico en Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México.
- Liu, Y., Chen, J., Wu, J., Luo, S., Chen, R., Liu, C., & Gilbert, R. G. (2019). Modification of retrogradation property of rice starch by improved extrusion cooking technology. *Carbohydrate polymers*, *213*, 192-198.
- Loarca, G., Luna D., Mojica L., Ramírez, A., & Luzardo, I. (2018). Health benefits of beans. In R. Campos-Vega, P. Bassinello, y B. Dave Oomah (Eds.), *Phaseolus vulgaris: Cultivars, Production and Uses* (pp. 2–25).
- López, J. F. M., Fuster, V. P., & Alberich, R. S. (2016). La utilización de los esteroles vegetales en la práctica clínica: de la química a la clínica. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 28(6), 283-294.
- López-Martínez, L. X., & García-Galindo, H. S. (2009). Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Nova Scientia*, 2-1(3),51-65.
- Luthria D. L., & Pastor-Corrales M. (2006). Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 205–211.
- Luzardo-Ocampo, I. I, Cuellar Nuñez, M. L., Oomah, B. Dave, Campos-Vega, R, & Loarca Piña, G. (2018). Common bean-based food products. En R. Campos-Vega, P. Bassinello, y B. Dave Oomah (Eds.), *Phaseolus vulgaris: Cultivars, Production and Uses* (pp. 2–25).
- Mancebo, C. M., Martínez, M. M., Merino, C., de la Hera, E., & Gómez, M. (2017). Effect of oil and shortening in rice bread quality: Relationship between dough rheology and quality characteristics. *Journal of texture studies*, *48*(6), 597-606.

- Maniglia, B. C., Castanha, N., Rojas, M. L., & Augusto, P. E. (2021). Emerging technologies to enhance starch performance. *Current Opinion in Food Science*, *37*, 26-36.
- Mannozzi, C., Rompoonpol, K., Fauster, T., Tylewicz, U., Romani, S., Dalla Rosa, M., & Jaeger, H. (2019). Influence of pulsed electric field and ohmic heating pretreatments on enzyme and antioxidant activity of fruit and vegetable juices. *Foods*, *8*(7), 247.
- Martín-Cabrejas, M. A., Esteban, R. M., Perez, P., Maina, G., & Waldron, K. W. (1997). Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during long-term storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(8), 3223-3227.
- Martínez, M. M., Marcos, P., & Gómez, M. (2013). Texture development in gluten-free breads: Effect of different enzymes and extruded flour. *Journal of Texture Studies*, *44*(6), 480-489.
- Martins, S. I., Jongen, W. M., & Van Boekel, M. A. (2000). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in food science & technology*, *11*(9-10), 364-373.
- Massieu T. Y. y Lechuga M. J. (2002). El maíz en México: biodiversidad y cambios en el consumo. *Análisis Económico, XVII (*36), 281-303.
- Mecha, E., Figueira, M. E., Patto, M. C. V., & do Rosário Bronze, M. (2018). Two sides of the same coin: The impact of grain legumes on human health: Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a case study. In *Legume Seed Nutraceutical Research*.
- Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., & Ruzzi, M. (2017). Current and forward-looking approaches to technological and nutritional improvements of gluten-free bread with legume flours: a critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 1101-1122.

- Melini, V., & Melini, F. (2018). Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. *Fermentation*, *4*(1), 9.
- Méndez-Montealvo G., Solorza-Feria J., Velázquez V.M., Gómez-Montiel N., Paredes-López O., & Bello-Pérez L. A. (2005). Composición química y caracterización calorimétrica de híbridos y variedades de maíz cultivadas en México. *Agrociencia*, (39), 267-274.
- Mesas, J. M., & Alegre, M. T. (2002). El pan y su proceso de elaboración the bread and its processing o pan eo seu proceso de elaboración. *CYTA-Journal of Food*, *3*(5), 307-313.
- Messina V. (2014). Nutritional and health benefits of dried beans. *The American Journal of Clinical Nutrition*,100 (1),437S–442S.
- Mishra, S., Hardacre, A., & Monro, J. (2012). Food structure and carbohydrate digestibility. *Carbohydrates-Comprehensive studies on glycobiology and glycotechnology*, 289-316.
- Mora-Rochin, S., Gutiérrez-Uribe, J. A., Serna-Saldivar, S. O., Sánchez-Peña, P., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*, *52*(3), 502-508.
- Muñoz J. A. M., Alvarado-Ortíz U. C., & Encina Z. C. (2011). Fitoesteroles y fitoestanoles: Propiedades saludables. *Horizonte Médico*, 11(2),93-100.
- Muñoz S., R. (2010). Frijol, rica fuente de proteínas. CONABIO. Biodiversitas, 89, 7-11.
- Nenadis, N., Wang, L., Tsimidou, M., & Zhang, H. (2004). Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS\*+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4669–4674.

Nishinari, K., Kohyama, K., Kumagai, H., Funami, T., & Bourne, M. C. (2013). Parameters of texture profile analysis. *Food Science and Technology Research*, *19*(3), 519-521.

Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html

Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Disponible en: http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/mex13521.pdf

Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/113ssa14.html

Norma Oficial Mexicana NOM-247-SSA1-2008, Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. Métodos de prueba. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/NOMcereales\_12434.pdf

Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm

Nunes, M. H. B., Moore, M. M., Ryan, L. A., & Arendt, E. K. (2009). Impact of emulsifiers on the quality and rheological properties of gluten-free breads and batters. *European Food Research and Technology*, 228(4), 633-642.

Olivas-Aguirre, F. J., Wall-Medrano, A., González-Aguilar, G. A., López-Díaz, J. A., Álvarez-Parrilla, E., Rosa, L. A., & Ramos-Jiménez, A. (2015). Taninos hidrolizables: bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 55-66.

- Olmedilla A. B., & Granado L. F. (2008) Componentes bioactivos. *Alimentos Funcionales. Aproximación a una Nueva Alimentación. Dirección general de salud pública y alimentación*; 170-93.
- Onyango, C., Mutungi, C., Unbehend, G., & Lindhauer, M. G. (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(3), 681-686.
- Oomah, B. D., Cardador-Martínez, A., & Loarca-Piña, G. (2005). Phenolics and antioxidative activities in common beans (Phaseolus vulgaris L). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 935-942.
- Ostlund Jr, R.E. (2002). Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition*; 22 (1), 533-549.
- Ouazib, M., Garzon, R., Zaidi, F., & Rosell, C. M. (2016). Germinated, toasted and cooked chickpea as ingredients for breadmaking. *Journal of food science and technology*, *53*(6), 2664-2672.
- Ovando-Martínez, M., Bello-Pérez, L. A., Whitney, K., Osorio-Díaz, P., & Simsek, S. (2011). Starch characteristics of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in different localities. *Carbohydrate polymers*, 85(1), 54-64.
- Palozza, P., Calviello, G., Serini, S., Maggiano, N., Lanza, P., Ranelletti, F. O., & Bartoli, G. M. (2001). β-Carotene at high concentrations induces apoptosis by enhancing oxy-radical production in human adenocarcinoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(9), 1000-1007.
- Paredes-López O., Guevara Lara F., & Bello-Pérez L.A. (2009). La nixtamalización y el valor nutritivo del maíz. *Ciencias* 92, 60-70.
- Pasqualone, A., Costantini, M., Coldea, T. E., & Summo, C. (2020). Use of legumes in extrusion cooking: A review. *Foods*, *9*(7), 958.
- Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68–81.

Peñaloza-Jiménez (2017). Obtención y caracterización fisicoquímica de tortillas producidas a partir de harina nixtamalizada por extrusión. Tesis Ingeniería en Química de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Peris, G. P., Lesmes, B., Cuerda, C. M., & Alvarez, C. (2002). Metabolismo colónico de la fibra. *Nutrición Hospitalaria*, *17*, 11-6.

Perry J.R., Ying W. (2016) A review of physiological effects of soluble and insoluble dietary fibers. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 6

Pietzak M. (2012) Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: When gluten free is not a fad. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*; 36, 68S-75S.

Pinto, A., Guerra, M., Carbas, B., Pathania, S., Castanho, A., & Brites, C. (2016). Challenges and opportunities for food processing to promote consumption of pulses. *Revista de Ciências Agrárias*, 39(4), 571-582.

Pomeranz, Y., & Meloan, C. E. (1994). Ash and minerals. In *Food analysis* (pp. 602-624). Springer, Boston, MA.

Priya, T. R., & Manickavasagan, A. (2020). Common bean. In *Pulses* (pp. 77-97). Springer, Cham.

Ptaszek, A., Berski, W., Ptaszek, P., Witczak, T., Repelewicz, U., & Grzesik, M. (2009). Viscoelastic properties of waxy maize starch and selected non-starch hydrocolloids gels. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 567-577.

Quílez, J., & Salvadó, J. S. (2013). La ingesta de sal y el consumo de pan. Una visión amplia de la situación. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 17(2), 61-72.

Ramírez-Jiménez A.K., Reynoso-Camacho R., Tejero M.E., León-Galván F., & Loarca-Piña G (2015). Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipid-lowering mechanisms. *Food Research International*, 76(1), 92–104.

Ramírez-Jiménez, A. K., Rangel-Hernández, J., Morales-Sánchez, E., Loarca-Piña, G., & Gaytán-Martínez, M. (2019). Changes on the phytochemicals profile of instant corn flours obtained by traditional nixtamalization and ohmic heating process. *Food chemistry*, 276, 57-62.

Ramírez-Jiménez, A. K., Reynoso-Camacho, R., Mendoza-Díaz, S., & Loarca-Piña, G. (2014). Functional and technological potential of dehydrated *Phaseolus vulgaris* L. flours. *Food Chemistry*, 161, 254-260.

Rao, A. V., & Agarwal, S. (2000). Role of antioxidantlycopene in cancer and heart disease. *Journal of the American College of Nutrition*, *19*(5), 563-569.

Ravaut, G., Légiot, A., Bergeron, K. F., & Mounier, C. (2021). Monounsaturated fatty acids in obesity-related inflammation. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 330.

Reyes-Moreno, C., Milán-Carrillo, J., Gutiérrez-Dorado, R., Paredes-López, O., Cuevas-Rodriguez, E. O., & Garzón-Tiznado, J. A. (2003). Instant flour from quality protein maize (*Zea mays* L). Optimization of extrusion process. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 685-695.

Rodríguez-Licea, G., García-Salazar, J., Rebollar-Rebollar, S., & Cruz-Contreras, A. (2010). Preferencias del consumidor de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en México: factores y características que influyen en la decisión de compra diferenciada por tipo y variedad. *Paradigma económico*, 2(1), 121–145.

Rose D.J, Inglett G.E, & Liu S.X. (2010). Utilisation of corn (*Zea mays*) bran and corn fiber in the production of food components. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 90(6),915–24.

Rostamian, M., Milani, J. M., & Maleki, G. (2014). Physical properties of glutenfree bread made of corn and chickpea flour. *International Journal of Food Engineering*, 10(3), 467-472.

SAGARPA. (2017a). *Planeación Agrícola Nacional. Frijol Mexicano*. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256428/B\_sico-Frijol.pdf

SAGARPA. (2017b). *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030*. México. SAGARPA.

Disponible en: <a href="https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\_sico-Ma\_z\_Grano\_Blanco\_y\_Amarillo.pdf">https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\_sico-Ma\_z\_Grano\_Blanco\_y\_Amarillo.pdf</a>

Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch—a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17.

Sakr, M., & Liu, S. (2014). A comprehensive review on applications of ohmic heating (OH). *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 39, 262-269.

Salari, S., & Jafari, S. M. (2020). The influence of ohmic heating on degradation of food bioactive ingredients. *Food Engineering Reviews*, 1-18.

Salehi, F. (2019). Improvement of gluten-free bread and cake properties using natural hydrocolloids: A review. *Food science & nutrition*, 7(11), 3391-3402.

Salinas, M. Y., Gómez, M. N., Cervantes, M. J., Sierra, M. M., Palafox, C. A., Betanzos, M. B. & Coutiño, E. B. (2010). Calidad nixtamalera y tortillera en maíces del trópico húmedo y sub húmedo de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 1(4), 509-523.

Salinas, Y., García, C., Coutiño, B., & Vidal, V. A. (2013). Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(3-A), 285-294.

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

Sánchez-Quezada, V. (2018). Enriquecimiento con aislado proteico y hierro biodisponible de una bebida a base de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) extruido variedad Bayo Madero. Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

- Saura-Calixto, F. Goñi, I., Bravo, L., & Mañas, E. (1993). Resistance starch in foods: Modified method for dietary fiber residues. *Journal of Food Science* 58 (3) 642-643.
- Scazzina, F., Siebenhandl-Ehn, S., & Pellegrini, N. (2013). The effect of dietary fibre on reducing the glycaemic index of bread. *British Journal of Nutrition*, 109(7), 1163-1174.
- Sciarini, L. S., Bustos, M. C., Vignola, M. B., Paesani, C., Salinas, C. N., & Perez, G. T. (2017). A study on fibre addition to gluten free bread: its effects on bread quality and in vitro digestibility. *Journal of food science and technology*, *54*(1), 244-252.
- Serna-Saldívar, S. O., Gutiérrez-Uribe, J. A., Mora-Rochin, S., & García-Lara, S. (2013). Potencial nutracéutico de los maíces criollos y cambios durante el procesamiento tradicional y con extrusión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36, 295-304.
- Shah T. R, Prasad K., & Kumar P. (2016). Maize A potential source of human nutrition and health: A review. *Journal Cogent Food & Agriculture*, (2).
- Shah, T. R., Prasad, K., & Kumar, P. (2015). Studies on physicochemical and functional characteristics of asparagus bean flour and maize flour. In G. C. Mishra (Ed.), Conceptual Frame Work & Innovations in Agroecology and Food Sciences (1), 103–105.
- Shahidi, F., & Naczk, M. (2004). Biosynthesis, classification, and nomenclature of phenolics in food and nutraceuticals. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*, 1-16.
- Sharma, N., Bhatia, S., Chunduri, V., Kaur, S., Sharma, S., Kapoor, P., & Garg, M. (2020). Pathogenesis of celiac disease and other gluten related disorders in wheat and strategies for mitigating them. *Frontiers in Nutrition*, 7.
- Shi J., Arunasalam K., Yeung D., Kakuda Y., Mittal G., Jiang Y (2004). Saponins from edible legumes: Chemistry, processing, and health benefits. *Journal of Medicinal Food*, 7, 67–68.
- Shiga, T. M., Lajolo, F. M., & Filisetti, T. M. (2003). Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Science and Technology, 23(2), 141-148.

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.
- Sinibaldi A. y Bressani R. (2001). Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 51 (1), 86-94.
- Stoin, D., Jianu, C., Mişcă, C., Bujancă, G., & Rădulescu, L. (2018). Effect of almond flour on nutritional, sensory and bakery characteristics of gluten-free muffins. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM: Surveying Geology & mining Ecology Management*, *8*, 127-134.
- Therrien, A., Kelly, C. P., & Silvester, J. A. (2020). Celiac Disease: Extraintestinal Manifestations and Associated Conditions. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *54*(1), 8-21.
- Tsuda T, F Horio, K Uchida, H Aoki, & T Osawa (2003) Dietary cyanidin 3-O-β-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *The Journal of Nutrition*. 133(7), 2125-2130.
- Turkut, G. M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S., & Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*, 69, 174-181.
- Ullah, I., Ali, M., & Farooqi, A. (2010). Chemical and Nutritional Properties of Some Maize (Zea mays L.) Varieties Grown in NWFP, Pakistan. Pakistan *Journal of Nutrition*, 9, 1113–1117.
- Ulloa, J.A, Rosas, U. P, Ramírez R. J. C, Ulloa, R. B. E. (2011). El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente*, 3 (8), 5-9.
- Varghese, K. S., Pandey, M. C., Radhakrishna, K., & Bawa, A. S. (2014). Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(10), 2304-2317.

- Wilson, A. S., Koller, K. R., Ramaboli, M. C., Nesengani, L. T., Ocvirk, S., Chen, C., & O'Keefe, S. J. (2020). Diet and the human gut microbiome: an international review. *Digestive diseases and sciences*, *65*(3), 723-740.
- Xu, B., & Chang, S. K. (2009). Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4754-4764.
- Zhang, B., Liu, G., Ying, D., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. (2017). Effect of extrusion conditions on the physico-chemical properties and in vitro protein digestibility of canola meal. *Food Research International*, *100*, 658-664.
- Zhao, X., Zhang, C., Guigas, C., Ma, Y., Corrales, M., Tauscher, B., & Hu, X. (2009). Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *European Food Research and Technology*, 228(5), 759-765.
- Ziobro, R., Korus, J., Witczak, M., & Juszczak, L. (2012). Influence of modified starches on properties of gluten-free dough and bread. Part II: Quality and staling of gluten-free bread. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 68-74.