

Efecto de la extrusión sobre la biodisponibilidad de proteína y almidón en mezclas de harinas de maíz y frijol lima

Cecilia Pérez-Navarrete, David Betancur-Ancona, Meris Casotto, Andrés Carmona y Juscelino Tovar

Universidad Autónoma de Yucatán-Facultad de Ingeniería Química. Mérida, Yucatán, México. Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela

RESUMEN. La extrusión se emplea para producir expandidos (botanas o snacks), crujientes y quebradizos. El impacto nutricional de este tipo de proceso no ha sido suficientemente estudiado, por ello se evaluó la biodisponibilidad “*in vitro*” e “*in vivo*” de la proteína y el almidón en mezclas de harinas de maíz (*Zea mays*) (M) y de frijol lima (*Phaseolus lunatus*) (F), tanto crudas como extrudidas. Las mezclas de harinas 75M/25F y 50M/50F (p/p) y fueron procesadas en un extrusor Brabender a 160°C, 100 rpm, y 15,5% de humedad. La composición proximal indicó un aumento del tenor de proteína y cenizas y una disminución de la grasa en los productos extrudidos. La digestibilidad *in vitro* de la proteína fue mayor en los extrudidos (82%) que en las harinas crudas (77%). Los contenidos de almidón potencialmente disponible y almidón resistente total disminuyeron con la extrusión. Los ensayos *in vitro* indican que la extrusión mejora la digestibilidad de la proteína y el almidón en las mezclas estudiadas. La biodisponibilidad *in vivo* se evaluó utilizando gorgojos de arroz (*Sitophilus oryzae*) como modelo biológico. Los biomarcadores más descriptivos de los cambios sugeridos por las pruebas *in vivo* fueron: el contenido de proteínas corporales, que incrementó por efecto de la extrusión, y la actividad de la α -amilasa intestinal, que disminuyó a consecuencia del procesamiento. Se concluye que la extrusión mejora apreciablemente la calidad nutricional de mezclas de maíz y frijol de lima.

Palabras clave: Extrusión, maíz, frijol lima, biodisponibilidad en insectos, proteína, almidón.

SUMMARY. Effect of extrusion on protein and starch bioavailability in corn and lima bean flour blends. Extrusion is used to produce crunchy expanded foods, such as snacks. The nutritional impact of this process has not been studied sufficiently. In this study, *in vitro* and *in vivo* protein and starch bioavailability was evaluated in both raw and extruded corn (*Zea mays*)(C) and lima bean (*Phaseolus lunatus*)(B) flour blends, prepared in 75C/25B and 50C/50B (p/p) proportions. These were processed with a Brabender extruder at 160°C, 100 rpm and 15.5% moisture content. Proximate composition showed that in the extruded products protein and ash contents increased whereas the fat level decreased. *In vitro* protein digestibility was higher in the extrudates (82%) than in the raw flours (77%). Potentially available starch and resistant starch contents decreased with extrusion. The *in vitro* assays indicated that extrusion improved protein and starch availability in the studied blends. *In vivo* bioavailability was evaluated using the rice weevil (*Sitophilus oryzae*) as a biological model. The most descriptive biomarkers of the changes suggested by the *in vivo* tests were body protein content (increased by extrusion) and intestinal α -amylase activity (decreased by processing). Overall, results suggest that extrusion notably increases the nutritional quality of corn and lima bean flour blends.

Key words: Extrusion, corn, lima bean, bioavailability in insects, protein, starch.

INTRODUCCION

El término “snacks” o “botanas” define una comida ligera, usualmente una ración individual que debe ser fácil de manipular, estar lista para comer, ser accesible y de tamaño pequeño que debe mitigar momentáneamente la sensación de hambre. Un proceso industrial versátil para obtenerlos es la extrusión, que generalmente se realiza a partir de cereales (1). En dicho proceso los cambios producidos en el almidón afectan la expansión y textura final del extrudido. Las modificaciones en la estructura del polímero, tales como fusión, gelatinización, fragmentación y dextrinización, están determinados por factores como la relación agua/almidón, temperatura, morfología, tamaño de partícula, relación amilosa/amilopectina, uso de aditivos, entre otros (2). Dichas modificaciones generalmente incrementan la biodisponibilidad

del almidón (3), aunque éstos pueden contener fracciones retrogradadas resistentes al ataque enzimático, las cuales se comportan fisiológicamente como fibra dietética (4, 5). Asimismo la proteína, como segundo componente principal en los extrudidos, puede sufrir desnaturalización y pérdida de solubilidad (6).

Para los organismos heterótrofos el alimento debe satisfacer ciertos parámetros de cantidad y calidad: los nutrimentos deben encontrarse biodisponibles para ser aprovechados (7). Esto ha sido demostrado con el empleo de modelos animales, como la rata y el ratón, y con menor frecuencia a los microorganismos, peces e insectos (7,8). Asimismo, la experimentación bioquímico-nutricional con insectos, se sustenta en los requerimientos nutricionales que éstos comparten con los animales superiores (9,10). El uso del gorgojo de arroz (*Sitophilus oryzae*) como ensayo

biológico para evaluar la eficiencia de utilización de diversos nutrientes, ha sido reportado con anterioridad (11,12). Baker y Woo (13) demostraron que la hidrólisis del almidón por la α -amilasa del gorgojo es similar a la catalizada por la enzima pancreática de los mamíferos, la cual se utiliza frecuentemente en los estudios de digestibilidad *in vitro* (5). Así, cabe esperar una buena correlación entre los resultados obtenidos con insectos y aquellos realizados con mamíferos. Este modelo de experimentación presenta múltiples ventajas como su corta duración y bajo costo de los experimentos; la posibilidad de utilizar compuestos purificados de limitada disponibilidad, y trabajar con poblaciones, lo que facilita el análisis estadístico y permite medir pequeñas variaciones de un fenómeno (11, 12). Además, se evita la utilización de animales vertebrados, cuya manipulación para la experimentación, está cada vez más cuestionada por organizaciones de protección animal.

Considerando la importancia alimentaria del maíz y las leguminosas en Latinoamérica, se evaluó el efecto de la extrusión sobre la biodisponibilidad “*in vitro*” e “*in vivo*”, con el gorgojo de arroz, de la proteína y el almidón presentes en productos extrudidos elaborados con mezclas de harinas de maíz (*Zea mays*) y frijol de lima (*Phaseolus lunatus*), en diferentes proporciones y compararlos con las harinas crudas correspondientes.

MATERIALES Y METODOS

Materias primas

Los granos de *Phaseolus lunatus* se obtuvieron de la cosecha de 2002 en el estado de Campeche, México; los de maíz semi-dentado, variedad colorado Dekalb 686, fueron proporcionados por el Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA), Santa Fé, Argentina.

Obtención de las harinas y preparación de las mezclas

Los granos de frijol lima fueron procesados en un molino Buhler-Miag, disminuyendo la distancia de los rodillos progresivamente de 2, a 1, a 0,5 y a hasta 0,25 mm y tamizando con malla 14. Los granos de maíz se molieron en el mismo equipo, tamizando con mallas 14, 20, 40 y 70. Las partículas >14 y >20 se dividieron con un separador neumático, obteniendo por un lado la sémola y por otro la cáscara y el germen. La sémola se sometió a una segunda molienda y tamizado en las mismas condiciones de los granos y las partículas retenidas entre la malla 40 y 70 de ambas moliendas constituyeron el material para extrudir. Se prepararon las mezclas de harina de maíz (M) y frijol lima (F) con las siguientes proporciones: 75M/25F y 50M/50F (p/p). Para esto se utilizó un mezclador Kitchen Aid.

Proceso de extrusión

Las mezclas de harinas se procesaron con un extrusor Brabender monotornillo con las siguientes características:

sensor de presión y temperatura, dos zonas de calentamiento, L/D 20:1, tornillo con razón de compresión 3:1, boquilla de 3,5 mm de diámetro por 20 mm de largo. Las condiciones empleadas fueron 15,5% de humedad, velocidad de extrusión de 150 rpm y la temperatura del barril y dado se fijó para el arranque a 160°C. Los materiales extrudidos se enfriaron en bandejas y se almacenaron en bolsas de polietileno hasta su análisis, para lo cual se molieron en un molino Cyclotec Tecator (Höganäs, Suecia).

Composición proximal

Los componentes proximales fueron determinados por los métodos de la AOAC (14); humedad (Método 925.09), cenizas (Método 923.03); grasa cruda o extracto etéreo (Método 920.39); proteína cruda (Kjeldahl) (Método 954.01) usando 6,25 como factor de conversión de nitrógeno a proteína, fibra cruda (Método 962.09). Los carbohidratos totales fueron estimados como el extracto libre de nitrógeno (ELN), calculado como el porcentaje faltante para completar el 100% de los componentes.

Digestibilidad “*in vitro*” de proteína

Se determinó por el método enzimático/potenciométrico propuesto por Hsu y col. (15).

Almidón potencialmente disponible

Se evaluó según la metodología multi-enzimática descrita por Holm y col. (16), basada en la digestión del almidón hasta glucosa.

Almidón resistente

Se efectuó de acuerdo a la metodología indicada por Goñi y col. (17), la cual cuantifica el tenor de almidón resistente total (fracciones debidas a retrogradación y a gránulos nativos no digestibles) (18).

Evaluación de la biodisponibilidad de proteína y almidón *in vivo*

Se emplearon gorgojos de arroz adultos, *Sitophilus oryzae*, según lo descrito por Carmona y Gómez-Sotillo (11). Los ensayos se realizaron por triplicado, utilizando 60 adultos por réplica y se alimentaron con 2 g de mezclas de harinas o de extrudidos finamente molidos, durante 8 días. Se mantuvo un grupo en ayuno (control negativo) y un grupo alimentado con almidón de maíz (control positivo). Al final del período de estudio se determinó la supervivencia ($[\text{Número de insectos sobrevivientes} / \text{Número inicial de insectos}] \times 100$) y la variación de peso ($\text{Peso (insectos sobrevivientes)} / \text{Peso inicial insectos} \times 100$). Los insectos vivos al cabo de los 8 días fueron sacrificados por congelación.

Determinación del nitrógeno corporal

La proteína corporal se determinó de acuerdo a una modificación del método de Cherry (19); los cadáveres desgrasados y secos de 30 insectos, se disolvieron con NaOH y se sometió a digestión con ácido sulfúrico, para finalmente determinar el contenido de nitrógeno con el reactivo de Nessler. El nitrógeno se calculó utilizando una curva estándar de sulfato de amonio (200 µg/mL); los resultados se expresaron como g de proteína (N x 6,25) por 100 g de peso corporal.

Determinación del ácido úrico excretado

El ácido úrico excretado se obtuvo por extracción con agua hirviendo (20). El contenido de los viales donde se cultivaron los insectos (excretas + alimento) se homogeneizó mecánicamente. Se pesaron 500 mg y se suspendieron en 2 mL de agua destilada hirviendo y se centrifugó a 8000 x g por 5 min. El ácido úrico solubilizado se determinó utilizando un reactivo enzimático comercial (Laboratorios Heiga, Caracas, Venezuela). Los resultados fueron reportados como µg de ácido úrico por µg de peso corporal.

Determinación de la actividad de α-amilasa

Los cadáveres de 20 insectos fueron macerados en 2 mL de agua destilada y se homogeneizaron en un Polter-Evelhem a 1000 rpm por 2 min. Luego se centrifugaron a 8.000 x g por 5 min. A los sobrenadantes obtenidos se les determinó la concentración de proteína, según el método de Bradford (21) y la actividad de α-amilasa mediante la liberación de azúcares reductores, empleando ácido 3,5 dinitrosalicílico (22). La actividad de α-amilasa fue expresada como actividad específica (mg maltosa/min x mg de proteínas).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados utilizando medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar) y se aplicó análisis de varianza de una vía y comparación de medias para establecer diferencias por el método de Duncan de acuerdo a Montgomery (23), usando el paquete estadístico Statgraphics Plus versión 4.1.

RESULTADOS

Composición proximal

La composición química de las harinas y de los extrudidos 75M/25F y 50M/50F se indica en la Tabla 1. La humedad de las mezclas extrudidas disminuyó con respecto a las harinas originales (de 11-12% a 7-8%). El aporte proteínico de 75M/25F fue bajo en comparación con la 50M/50F, debido al incremento en la proporción de frijol, de elevado contenido proteico. Después de la extrusión el porcentaje de proteína fue de 10,9% y 16% para 75M/25F y 50M/50F, respectivamente. Por otra parte, la concentración de grasa de las mezclas disminuyó considerablemente, después del procesamiento. La extrusión no repercutió en el contenido de fibra cruda de 75M/25F, no obstante, si lo elevó en 50M/50F. Finalmente, el porcentaje de cenizas en la mezcla extrudida 75M/25F fue de 1,9%, mayor que en la 50M/50F. La mezcla extrudida 75M/25F presentó un valor superior de extracto libre de nitrógeno (ELN, 84,65%), lo cual corrobora su mayor contenido de carbohidratos totales, que se mantuvieron después de la extrusión.

TABLA 1
Composición proximal de harinas y mezclas extrudidas

Componente	Mezcla 75M/25F Harina	Mezcla 75M/25F Extrudida	Mezcla 50M/50F Harina	Mezcla 50M/50F Extrudida
Humedad	11,96 ± 0,04 ^c	7,84 ± 0,06 ^a	11,56 ± 0 ^b	7,92 ± 0,19 ^a
Proteína	10,24 ± 0,06 ^a	10,89 ± 0,01 ^b	15,62 ± 0,14 ^c	16,02 ± 0,13 ^d
Grasa	2,25 ± 0,01 ^d	0,79 ± 0,12 ^b	1,62 ± 0,04 ^c	0,40 ± 0,07 ^a
Fibra Cruda	1,68 ± 0,09 ^a	1,77 ± 0 ^a	2,78 ± 0 ^b	3,23 ± 0,11 ^c
Cenizas	1,61 ± 0,01 ^a	1,9 ± 0,06 ^b	2,21 ± 0,05 ^c	2,7 ± 0,06 ^d
ELN	84,22 ± 0,18 ^b	84,65 ± 0,17 ^b	77,77 ± 0,15 ^a	77,65 ± 0,11 ^a

Los valores representan la media de tres ensayos la desviación estándar, expresados en base seca (excepto la humedad).

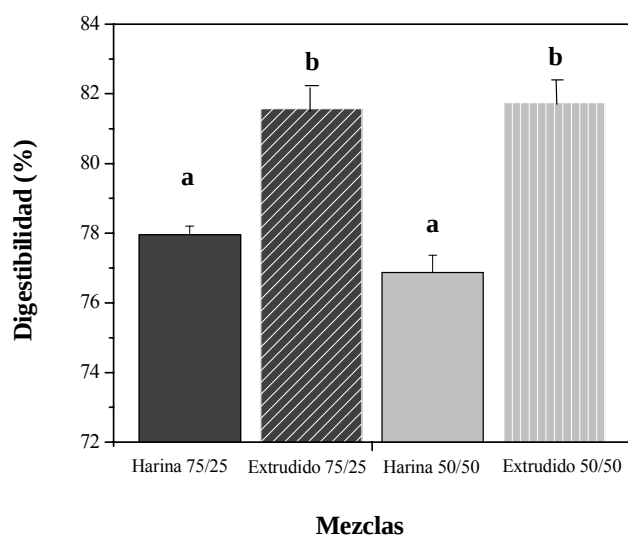
ELN: extracto libre de nitrógeno; 100-(proteína+grasa+fibra cruda+cenizas).

^{a-b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencia estadística (P<0.05).

Digestibilidad “*in vitro*” de proteína

Los índices de digestibilidad *in vitro* resultaron estadísticamente iguales ($p>0,05$) entre las distintas mezclas de harinas, así como entre las preparaciones extrudidas (Figura 1). No obstante, se observa que el proceso de extrusión mejoró la digestibilidad de las muestras en estudio, ya que tanto en la mezcla 75M/25F como en la 50M/50F se alcanzaron valores de 81,57% y 81,75%, respectivamente, lo que representa un aumento del 4%, en relación a las mezclas crudas.

FIGURA 1
Digestibilidad *in vitro* de proteína en las mezclas de harinas crudas y extrudidas



^{a-b} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p<0,05$). Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

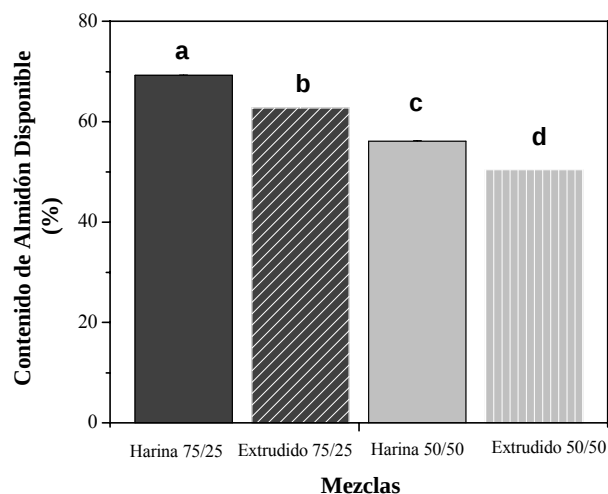
Almidón disponible

En la Figura 2 se muestra el contenido de almidón potencialmente disponible (AD) en las muestras estudiadas, encontrando el mayor valor en las mezclas 75M/25F, tanto en las harinas (69,36%) como en los extrudidos (62,51%). También se encontró que en ambas mezclas después del procesamiento, el almidón disponible disminuyó significativamente ($p<0,05$) con respecto a las harinas crudas.

Almidón resistente

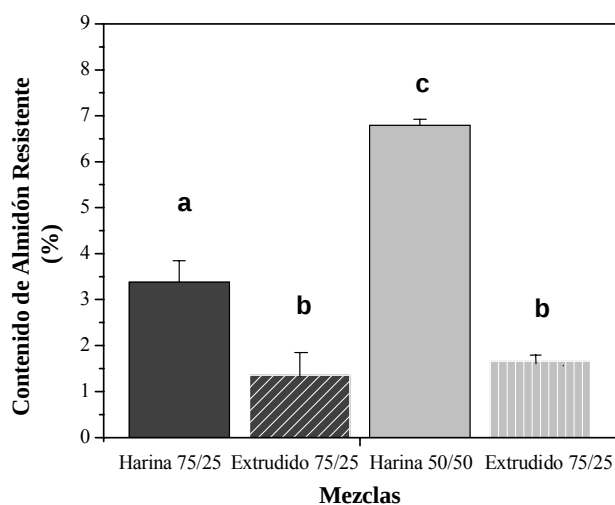
El contenido de almidón resistente total (AR) se presenta en la Figura 3. La mezcla de harina 50M/50F presentó el mayor nivel de AR con 6,79%, mientras que los valores encontrados en las mezclas extrudidas resultaron estadísticamente equivalentes ($p<0,05$) con 1,35 % y 1,66% para las mezclas 75M/25F y 50M/50F, respectivamente.

FIGURA 2
Contenido de almidón disponible (AD) en las mezclas de harinas crudas y extrudidas



^{a-d} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p<0,05$). Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

FIGURA 3
Contenido de almidón resistente (AR) en las mezclas de harinas crudas y extrudidas



^{a-c} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p<0,05$). Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

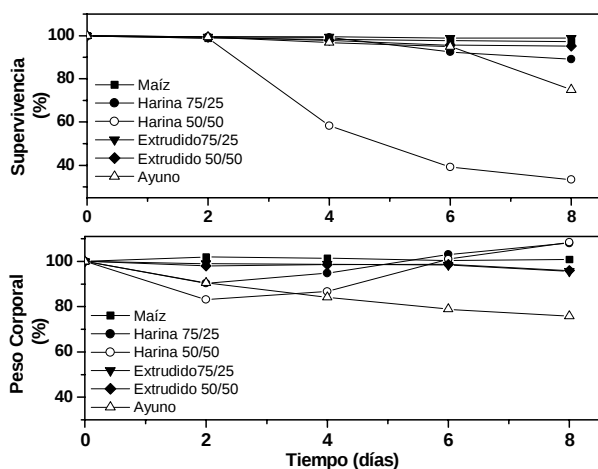
Evaluación de la biodisponibilidad “*in vivo*” de proteína y almidón

La mayoría de las dietas ensayadas promovieron una supervivencia superior al ayuno (Figura 4A). No obstante, la mezcla 50M/50F resultó ser tóxica para los animales. Este

efecto se revirtió cuando al extrudir esta harina, es decir, la supervivencia aumentó de 33,3% a 95,1%. Por otra parte, las dietas 75M/25F (harina y extrudido), indujeron una supervivencia similar al almidón de maíz (97,21%), empleado como control positivo. En términos de la variación de peso corporal las dos preparaciones extrudidas promovieron al final del ensayo una ligera disminución del peso (Figura 4B). En contraste, los insectos alimentados con las harinas pasan por una etapa de adaptación disminuyendo su peso (0-2 días), sin embargo, a partir del cuarto día comienzan a aumentar de peso. Los insectos alimentados con la harina 75M/25F mostraron mayor retención de proteína (9,5 %), que los alimentados con la harina 50M/50F (7%). La extrusión aumentó significativamente el aprovechamiento proteico de la mezcla 50M/50F, elevando la retención proteica al 10% (Figura 5).

FIGURA 4

Efecto de las dietas sobre la supervivencia y el peso corporal en el gorgojo de arroz



A: Supervivencia expresada como porcentaje del número inicial de individuos.

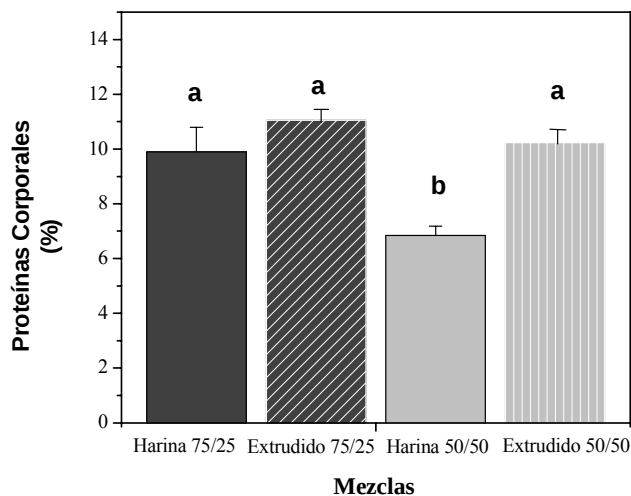
B: Peso corporal expresado como porcentaje del peso inicial de los individuos. El peso promedio de los insectos al inicio del experimento fue de $1,81 \pm 0,05$ mg.

Acido úrico

En la Figura 6, se muestran los resultados de excreción de ácido úrico. En los animales que consumieron las mezclas extrudidas, la excreción fue significativamente ($p < 0,05$) más elevada que para el grupo alimentado con las harinas; obteniéndose valores en los extrudidos de $133 \mu\text{g}/\mu\text{g}$ peso para 75M/25F y $192 \mu\text{g}/\mu\text{g}$ peso para 50M/50F. En la preparación cruda 75M/25F la excreción de dicho metabolito fue 2,6 veces mayor que en la mezcla 50M/50F.

FIGURA 5

Efecto de la dieta sobre el contenido de proteína corporal en el gorgojo del arroz

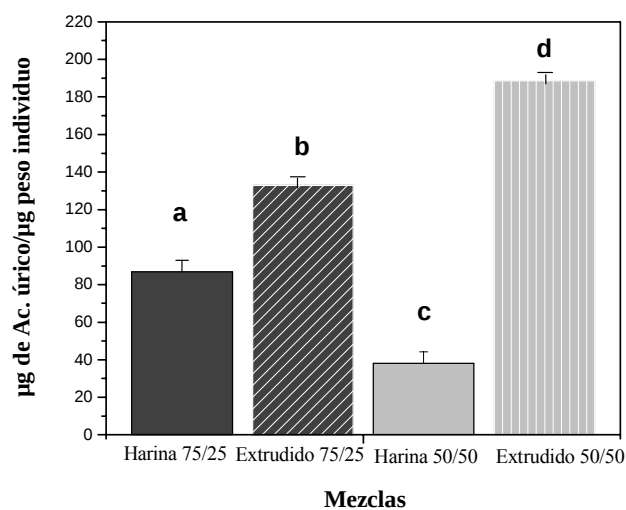


^{a-b} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0,05$).

Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

FIGURA 6

Efecto de las dietas sobre la excreción de ácido úrico por el gorgojo del arroz



^{a-d} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0,05$).

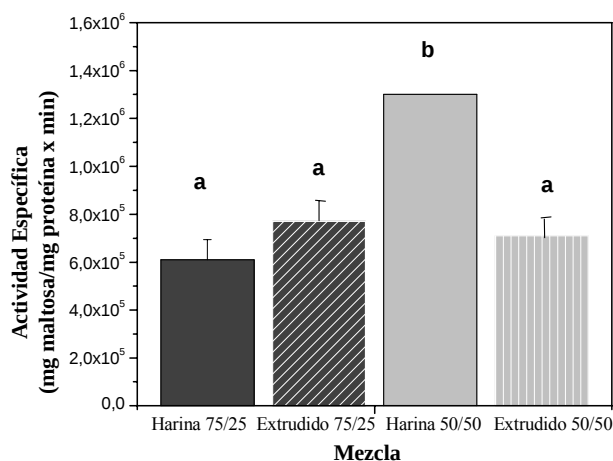
Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

Actividad de α -amilasa

La actividad específica de α -amilasa en insectos que consumieron la mezcla 75M/25F, no mostró diferencias significativas entre las preparaciones cruda y extrudida (Figura 7). Por el contrario, si se observaron diferencias significativas entre los animales que ingirieron la harina 50M/50F y su

extrudido. Asimismo, la máxima actividad de amilasa se obtuvo con la harina 50M/50F ($1,32 \times 10^6$ mg maltosa/ mg proteína x min.) y los valores de actividad obtenidos para el resto de las dietas oscilaron entre 6×10^5 - $7,8 \times 10^6$.

FIGURA 7
Efecto de la dieta sobre la actividad de la α -amilasa intestinal en el gorgojo del arroz



^{a-b} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0,05$)
Las barras de error representan el valor de la desviación estándar.

DISCUSION

La disminución de los niveles de humedad a consecuencia de la extrusión fue sólo moderada, quizás a consecuencia de la humedad de la materia prima y la temperatura final alcanzada durante el proceso. Este factor puede considerarse suficiente para deteriorar los extrudidos con cierta rapidez, si no son empacados de manera adecuada, ya que según Huber (6) la humedad deseable para productos expandidos debe ser de 1-2%. En lo que respecta a las proteínas, los porcentajes obtenidos fueron similares a los reportados previamente (24), con 10,4% y 12,1% para mezclas extrudidas de maíz, arroz y soya a 16% de humedad. Por otra parte, la disminución del contenido de grasa después de la extrusión pudo deberse a la alta temperatura y la velocidad de tornillo empleadas; ello puede haber provocado la degradación de los lípidos. De igual forma, los ácidos grasos presentes en el material forman complejos con la amilosa, haciendo que su extracción sea más difícil (26), lo cual causaría un descenso aparente del contenido graso. Por otra parte, se ha señalado que para materiales con bajo contenido de carbohidratos complejos, el proceso de extrusión no afecta el tenor de fibra (como en los cereales), pero cuando el contenido de carbohidratos complejos es alto (leguminosas), la extrusión aumenta el porcentaje de fibra cruda (25), así

sucedió con la mezcla 50M/50F. De la misma manera, ambas mezclas extrudidas aportan principalmente energía (carbohidratos y grasas) y proteína; sin embargo, la mezcla extrudida 50M/50F cuenta con cantidades mayores de estos componentes y además su contenido de fibra cruda es considerable. Boonyasirikool y Charunuch (24) clasifican las botanas como ricas en proteína cuando este componente aporta del 10% al 12% del total de las calorías del alimento. Tal es el caso de las mezclas extrudidas aquí ensayadas, en las que la proteína aporta entre 12% y 19% del total de las calorías.

Los resultados obtenidos para la digestibilidad proteica in vitro (Figura 1), concuerdan con los de Zamora (27), quien reportó un índice bajo (57,52%) para la harina cruda de Canavalia ensiformis, valor que aumentó a 89,46% después de la extrusión. Chau y Cheung (28) indican que la digestibilidad está limitada por la estructura globular de las proteínas de leguminosas y por la presencia de factores antinutricios (inhibidores de proteasas, polifenoles, fitatos, etc.). Probablemente los factores antinutricios disminuyeron, al someter las harinas estudiadas al proceso de extrusión. Zamora (27) y Ainsworth y col. (29), encontraron que la extrusión disminuye la actividad de los inhibidores proteasas, debido a los efectos físicos (calor) y mecánicos (fuerzas de corte) del tratamiento.

Durante la extrusión, el almidón puede sufrir una degradación molecular por la temperatura, humedad y velocidad del tornillo (30). Así, las condiciones empleadas en este estudio (150° C y 100 rpm) pudieron ser suficientes para lograr una degradación de este componente, obteniéndose materiales de menor peso molecular, tales como azúcares, los cuales no son cuantificables con el método empleado para la determinación de almidón disponible (Figura 2). Asimismo, Tovar y col. (31) han sugerido que el descenso en el contenido de AD asociado a procesos de extrusión puede deberse a reacciones de transglucosidación, las cuales generan enlaces glucosídicos atípicos que no son reconocidos por las enzimas amilolíticas. Otra posible explicación puede ser la interacción proteína-almidón; Asp y Björck (25) observaron, en maíz extrudido, que los gránulos se encuentran incrustados en la matriz proteica (glutelinas), y en los cuerpos proteicos (zeínas). Adicionalmente, considerando que una característica de la amilosa es su capacidad de interactuar con los lípidos, se puede inferir que en el material extrudido pudiera haber la presencia de estos complejos, los cuales se someten a un ordenamiento conformacional de espiral a hélice, haciéndolos estables térmicamente e insolubles, razón por la cual, posiblemente se redujo la disponibilidad de almidón en esas mezclas.

El mayor contenido de AR en la mezcla de harinas 50M/50F con respecto a la 75M/25F, se debe a la mayor proporción de frijol en la mezcla, ya que los almidones de leguminosas presentan mayor resistencia a la hidrólisis por las enzimas

digestivas, dadas sus características estructurales, reflejadas por un patrón de difracción de rayos X tipo C (31). Los gránulos de almidón de maíz por su parte, presentan un patrón de difracción tipo A, que los hace más susceptibles de ser atacados por las enzimas. Por las condiciones a las que se sometieron los componentes durante el proceso de extrusión, el almidón sufre un proceso de gelatinización y probablemente degradación, provocando la pérdida de los patrones de difracción presentes en los almidones nativos. Estos cambios son responsables de la disminución del contenido de almidón resistente total observado luego de la extrusión (Figura 3). Pese a que el tenor de almidón resistente total disminuyó con el procesamiento, es posible que parte de la resistencia cuantificada incluya fracciones de almidón resistente por retrogradación, como ha sido sugerido con anterioridad (3, 25, 33).

Evaluación de la biodisponibilidad “*in vivo*” de proteína y almidón

Se ha demostrado en gorgojos de arroz (11), que el parámetro supervivencia (Figura 4A) permite evaluar la toxicidad de la dieta, particularmente cuando la supervivencia es menor que en la condición de ayuno (12). Esto se observa claramente con la harina 50M/50F, donde a pesar de obtenerse la mayor ganancia de peso, el porcentaje de supervivencia fue el menor; es decir, los insectos consumieron la dieta pero ésta les resultó tóxica, la cual podría atribuirse a factores antinutricios, como los inhibidores de la α -amilasa y tripsina, taninos, ácido cianhídrico y ácido fítico (12,34). La extrusión elimina o reduce algunos de estos componentes tóxicos del frijol lima (*Phaseolus lunatus*), este proceso mejoró la calidad nutricional de la mezcla 50M/50F elevando significativamente la supervivencia de los insectos. En general la ingesta de las dietas extrudidas no ocasionó, el aumento de peso de los animales. Esto podría deberse a la baja “palatabilidad” o textura de estas dietas. Asimismo, es posible que los insectos consuman mayor cantidad de alimento con las dietas a base de harinas ya que estas por su condición cruda contienen nutrientes (almidón, proteína) difíciles de digerir, lo que representaría una respuesta adaptativa ante un alimento poco biodisponible.

El contenido de proteína corporal se refiere a la cantidad de nitrógeno que el gorgojo es capaz de retener o almacenar para mantener su balance de nitrógeno. Desde el punto de vista de calidad proteica, este parámetro indica que el extrudido de la mezcla más rica en leguminosa (50M/50F) es superior a la harina cruda, lo cual corrobora los resultados de la digestibilidad *in vitro*. Con la mezcla 75M/25F, no se observó el efecto posiblemente por que en ésta el aporte proteico del frijol es inferior. Por su parte con la dieta de almidón maíz se registró un 4,73% de proteína corporal (datos no mostrados), siendo este un valor menor comparado al resto de las dietas ensayadas, lo que puede atribuirse a que se trata de una dieta proteica.

La excreción de ácido úrico en las muestras estudiadas, se relaciona directamente con la digestibilidad proteica encontrada *in vitro*. El proceso de extrusión aumentó la digestibilidad de las proteínas de la mezcla en relación a las harinas crudas. El incremento fue mayor en el caso de las mezclas 50M/50F, lo que podría reflejar el incremento en la digestibilidad de las proteínas del frijol y a la destrucción de los factores antinutricios. Esto probablemente condujo a una mayor absorción de aminoácidos en el animal, trayendo como consecuencia un incremento en la excreción nitrogenada (Figura 6). Este hecho no es sorprendente dado que la concentración proteica de las dietas aquí evaluadas es muy superior al rango de 0,5-1%, establecido por López (20), estimado como ingesta proteica optima para este insecto.

En animales superiores la ingesta regular de dietas de baja digestibilidad se traduce en la producción y secreción incrementada de enzimas digestivas (35). Estudios preliminares en este laboratorio han sugerido que también en el modelo del *Sitophilus oryzae* la actividad de la α -amilasa intestinal guarda una relación inversa con la digestibilidad del almidón presente en la dieta. El efecto sobre la actividad de amilasa no se observó con las dietas basadas en la mezcla 75M/25F (Figura 7). Esto posiblemente se deba a la mayor proporción de almidón de maíz presente en estas preparaciones; en otras palabras, la elevada digestibilidad de dicho almidón, discutida anteriormente, mejora la biodisponibilidad promedio de la mezcla. En contraste, las dietas basadas en la mezcla 50M/50F, donde la preparación extrudida indujo una menor actividad amilolítica que la muestra no tratada (Figura 7), lo cual es cónsono con el aumento de la biodisponibilidad evidenciado por la disminución del contenido de AR (Figura 3).

CONCLUSIONES

La composición química de las mezclas de harinas, crudas y extrudidas mostró variaciones significativas. El contenido de proteína y fibra cruda de la mezcla 50M/50F fue mayor que en la mezcla 75M/25F. La digestibilidad *in vitro* de la proteína aumentó con el proceso de extrusión. El contenido de almidón disponible fue mayor en las harinas que en las muestras extrudidas, debido posiblemente a la degradación térmica y a la formación de complejos almidón-lípido y almidón-proteína. El contenido de almidón resistente total disminuyó después del proceso de extrusión en las dos mezclas estudiadas, lo cual es atribuible a la gelatinización de los gránulos por efecto de la temperatura y esfuerzos de corte. La evaluación de la biodisponibilidad utilizando *S. oryzae* como modelo experimental corroboró el aumento de la utilización biológica de la proteína y el almidón presente en las mezclas cuando se someten al proceso de extrusión. Esto se evidenció principalmente a través del contenido de proteínas

corporales y la actividad de α -amilasa intestinal, parámetros que se perfilan como biomarcadores útiles para la evaluación de la biodisponibilidad de la proteína y el almidón, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por The International Foundation for Science (Estocolmo, E-2009-3) y The International Atomic Energy Agency (Viena), así como al Ing. Rolando González del Instituto de Tecnología de Alimentos de la Universidad Nacional del Litoral (Argentina) por el apoyo y las facilidades otorgadas para efectuar las pruebas de extrusión.

REFERENCIAS

- Hurtado M, Escobar B, Estévez A. Mezclas legumbre/cereal por fritura profunda de maíz amarillo y de tres cultivares de frijol para consumo "snacks". Arch Latinoamer Nutr 2001; 51: 303-308.
- Lai L, Kokini J. Physicochemical and rheological of starch during extrusion (A review). Biotechnol Progress 1991; 7: 251-266.
- Tovar J, Herrera E, Laurentin A, Melito C, Pérez E. In vitro digestibility of modified starches. En: Pandalai SG, editor. Recent Research Advances in Agricultural and Food Chemistry., Trivandrum, India: Research Signpost; 1999. 3: 1-10.
- Lue S, Hsieh F, Huff H. Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: effects on expansion properties, starch gelatinization, and dietary fiber content. Cereal Chem 1991; 68: 227-234.
- Tovar J. Influencia de factores intrínsecos de los alimentos sobre la digestión y absorción del almidón. Arch Latinoamer Nutr 1995; 45 Suppl 1: 263-265.
- Huber G. Snacks foods from cooking extruders. En: Lusas E, Rooney L, editors. Snacks foods processing. Pennsylvania: Technomic Publishing; 2001. p. 315-368.
- Carmona A, Liuzzi, JP. Biodisponibilidad de nutrientes: fácil de definir, difícil de evaluar. An Venez Nutr 1998; 11:66-78.
- Canavoso L, Jouni Z, Karnas K, Pennington J, Wells M. Fat metabolism in insect. Ann Rev Nutr 2001; 21: 23-46.
- Bursell E. The role of proline in energy metabolism. En: Downer, RG editors. Energy metabolism in insects. New York: Plenum Press; 1981. p. 31-56.
- Chapman R. The insects: structure and function. American Elsevier Publishing Company editors. New York; 1971. p. 21-82.
- Carmona A., Gómez-Sotillo A. Uso de insectos en estudios nutricionales. Cambios en la composición corporal inducidos por la dieta. An Venez Nutr 1997; 10: 20-26.
- Gómez-Sotillo A, Carmona A. *Canavalia ensiformis* affects survival and body composition of *Sitophilus oryzae* adults. En: Jasman AJ, Hill GD, Whuifman J, J. Van der Poel J. Recent Advances of Research on Antinutritional Factors in Legume Seeds and Rapeseed. Wageningen, Holand;1998. 3: 295-299.
- Baker J, Woo S. Digestion of starch granules by α -amylases from the rice weevil, *Sitophilus oryzae*: effect of starch type, fat extraction, granule size, mechanical damage, and detergent treatment. Insect Biochem Molec Biol 1992; 22: 529-537.
- AOAC. Official Methods of Analysis. Asociation Official Analytical Chemistry. Horwitz, Washington; 1997.
- Hsu H, Vavak D, Satterlee L, Miller G. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J Food Sci 1977; 42: 1269-1279.
- Holm J, Björck I, Drews A, Asp N. A rapid method for the analysis of starch. Starch/Stärke 1986; 38: 224-226.
- Goñi I, García-Diz L, Mañas E, Saura-Calixto F. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products. Food Chem 1996; 56: 445-449.
- Tovar J. Métodos para la determinación de almidón resistente en los alimentos, En: Lajolo F, Saura-Calixto F, Wittig de Penna E, y Menezes E, editors. Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, Caracterización, Efecto Fisiológico y Aplicación en Alimentos. Sao Paulo, Brasil: Ltd. Press; 2001. p. 143-154.
- Cherry J. Molecular biology of plants. En: Columbia University Press, editors A text-manual.. Columbia, USA; 1973. p. 37-42.
- López Y. Efecto de la concentración y calidad de la proteína dietaria sobre la composición corporal, la actividad de enzimas digestivas y el potencial reproductivo de gorgojos del arroz (*Sitophilus oryzae*) [tesis de Licenciatura]. Caracas: Universidad Central de Venezuela; 1999.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-259.
- Hostettler F, Borel E, Deuel H. Über die reduktion der 3,5-dinitrosalicylsäure durch Zucker. Helvetica Chim Acta 1951; 34: 2131-2135.
- Montgomery D. Diseño y análisis de experimentos. Grupo Editorial Limusa, editors. México; 2003.
- Boonyasirikool P, Charunuch C. Development of nutritious soy fortified snack by extrusion cooking. Kasetsart J (Natural Science) 2000; 34: 355-365.
- Asp N, Björck I. Nutritional properties of extruded foods. En: Mercier C., Linko P., Harper J, editors, Extrusion Cooking. Minnesota: AACC; 1989. p. 399-433.
- Vodovotz Y, Zasytkin D, Lertsiriyothin W, Lee TC, Bourland T. Quantification and characterization of volatiles evolved during extrusion of rice and soy flours. Biotechnol Progress 2000; 16:299-301.
- Zamora N. Efecto de la extrusión sobre la actividad de factores antinutricionales y digestibilidad *in vitro* de proteínas y almidón en harinas de *Canavalia ensiformis*. Arch Latinoamer Nutr 2003; 53: 293-298.
- Chau C, Cheung P. Effect of various processing methods on antinutrients and in vitro digestibility al protein and starch of two Chinese indigenous legume seeds. J Agric Food Chem 1997; 45: 4773-4776.
- Ainsworth P, Fuller D, Plunkett A, Ibanoglu S. Influence of extrusion variables on the protein in vitro digestibility and protein solubility of extruded soy tarhana. J Sci Food Agric 1999; 79: 675-678.

30. Colonna P, Tayeb J, Mercier C. Extrusion cooking of starch and starchy products. En: Mercier C; Linko P, Harper J, editors. Extrusion Cooking. Minnesota: AACC; 1989. p. 247-319.
31. Tovar J, Melito C, Herrera E, Laurentín A, Pérez E. Starch modification from a nutritional point of view. *Agro-Food Industry Hi-Tech* 1999;10:27-30.
32. Biliaderis, C. Structures and phase transitions of starch polymers. En: Walter R, Dekker M. Polysaccharide association structures in food. Inc, USA; 1998. p. 57-168.
33. Unlu E, Faller J. Formation of resistant starch by a twin-screw extruder. *Cereal Chem* 1998; 75: 346-350.
34. Laureana A, Revilleza M, Mendoza E. Polyphenols, phytate, cyanogenic glycosides of several Philippine food legumes. *J Food Compost Anal* 1994; 7: 194-202.
35. Liener I. Significance for humans of biological active factors in soybeans and other food legumes. *J Am Oil Chem Soc* 1979; 56:121-129.

Recibido: 23-07-2007

Aceptado: 15-08-2007