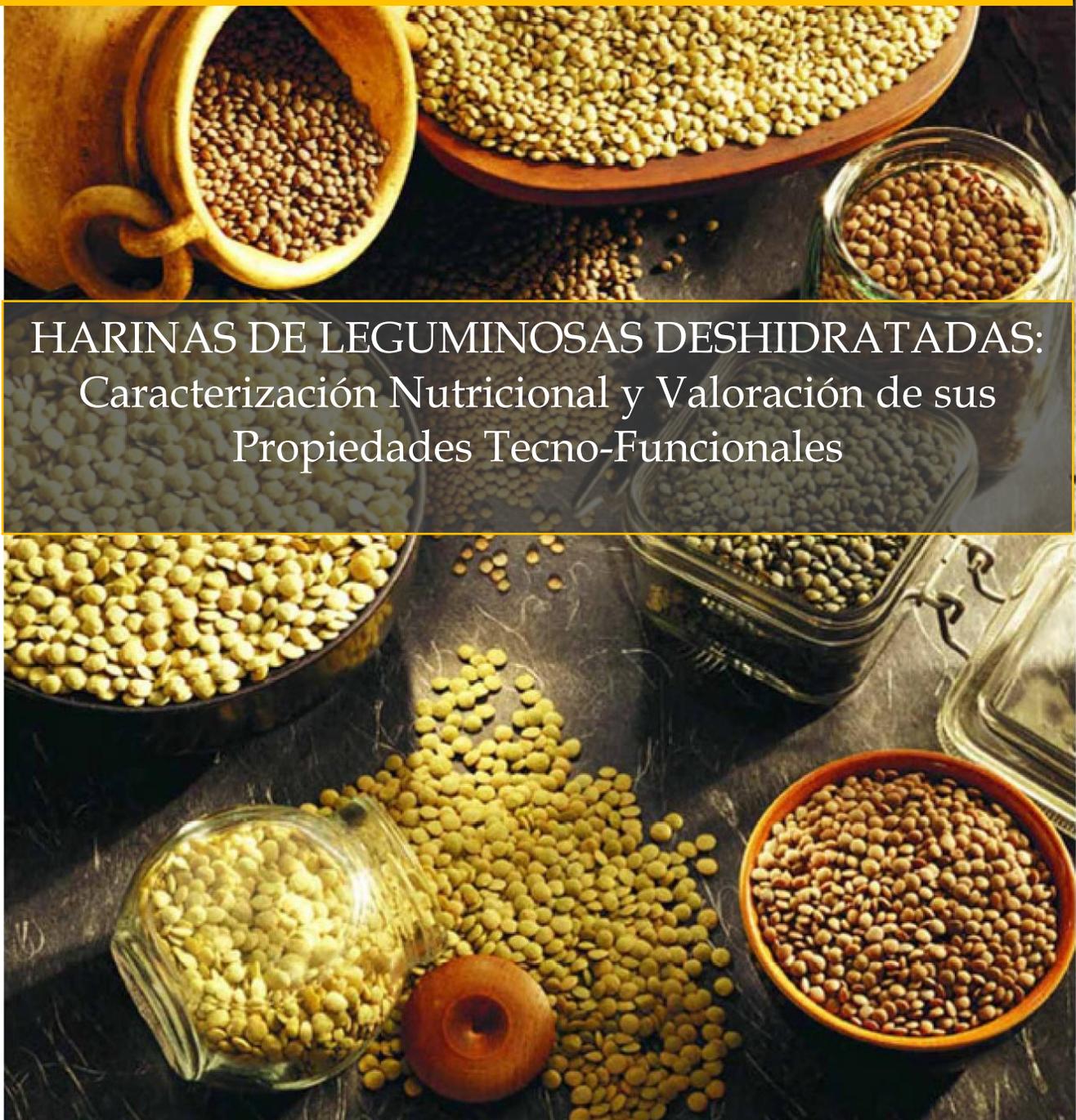


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química Agrícola



HARINAS DE LEGUMINOSAS DESHIDRATADAS:
Caracterización Nutricional y Valoración de sus
Propiedades Tecno-Funcionales

YOLANDA AGUILERA GUTIÉRREZ
Madrid, 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Química Agrícola



TESIS DOCTORAL

HARINAS DE LEGUMINOSAS DESHIDRATADAS:
Caracterización Nutricional y Valoración de sus
Propiedades Tecno-Funcionales

YOLANDA AGUILERA GUTIÉRREZ
Madrid, 2009

Directoras: Dra. María Ángeles Martín Cabrejas
Dra. Rosa María Esteban Álvarez



Facultad de Ciencias
Departamento de Química Agrícola

MARÍA ÁNGELES MARTÍN CABREJAS Y ROSA MARÍA ESTEBAN ÁLVAREZ, PROFESORAS TITULARES DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID.

CERTIFICAN:

Que D^a Yolanda Aguilera Gutiérrez, ha realizado bajo nuestra dirección y en este Departamento el trabajo que lleva por título “HARINAS DE LEGUMINOSAS DESHIDRATADAS: Caracterización Nutricional y Valoración de sus Propiedades Tecno-Funcionales” que constituye su Memoria de Tesis Doctoral. Dicho trabajo reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos firmamos el presente certificado en Madrid, a 13 de Noviembre del 2009.

Fdo: María Ángeles Martín-Cabrejas Fdo: Rosa María Esteban Álvarez



Facultad de Ciencias
Departamento de Química Agrícola

AGUSTÍN GARATE ORMAECHEA, CATEDRÁTICO Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID.

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado: "Harinas de Leguminosas Deshidratadas: Caracterización Nutricional y Valoración de sus Propiedades Tecno-Funcionales" se ha realizado en este Departamento bajo la dirección de las Dras. María Ángeles Martín Cabrejas y Rosa María Esteban Álvarez, y que constituye la Memoria que presenta D^a Yolanda Aguilera Gutiérrez para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos firmamos el presente certificado en Madrid, a 13 de Noviembre del 2009.

Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

Esta Tesis Doctoral no hubiese sido posible sin la financiación del proyecto de investigación titulado CAL03-042 "Valoración de propiedades funcionales en materias primas vegetales, base de productos dietéticos, seguridad en su proceso de elaboración", enmarcado en las Acciones Estratégicas del Programa Nacional de Alimentación. Las muestras de legumbres fueron suministradas por gentileza de la empresa Agrotécnica S.L.

En primer lugar tengo que agradecer a mis dos directoras de tesis, la Dra. M^a Ángeles Martín Cabrejas y la Dra. Rosa M^a Esteban Álvarez por haberme iniciado en el camino de la investigación y haber dirigido esta tesis, sin su experiencia, dedicación y críticas constructivas, no hubiese sido posible realizarla. A la Dra. Esperanza Mollá Lorente, por su confianza, ayuda y dedicación durante estos cinco años. También agradecer al Dr. Fco. Javier López-Andreu, el alma de este grupo de investigación, por estar siempre presente ofreciéndome su ayuda, apoyo y consejo siempre que lo he necesitado.

A la Dra. Pilar Zornoza por sus valiosos consejos en el manejo estadístico de los datos.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento al resto de compañeros y profesores del departamento que me han alentado continuamente en la redacción de esta Tesis.

En especial, quiero expresar mi agradecimiento al Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC), a las Dras Isabel Estrella, Teresa Hernández y Begoña Bartolomé, con las que he tenido el placer de trabajar quiero agradecerles su buen hacer y su voluntad para ayudarme en el complejo estudio de los compuestos fenólicos.

También agradecer al departamento de microscopía electrónica (SIDI), por la inestimable ayuda que Esperanza e Isidoro nos ofrecieron en la obtención de imágenes de alta resolución.

Al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), en especial a la Dra. Carmen Cuadrado y la Dra. X, que han llevado a cabo parte de la determinación de los factores antinutricionales.

No puedo olvidar a las personas que han hecho que el día a día en este complejo mundo de la investigación tenga momentos inolvidables, únicos y lo que es más importante compartidos, porque su ánimo, ayuda y compañía han sido los ingredientes necesarios para que yo pudiera terminar con la Tesis y no ella conmigo. Son personas cercanas, de dentro y de fuera de este mundo, doctores, becarios, amigos, que forman parte de la familia y que con miradas más que con palabras me han dado en cada momento lo que realmente necesitaba. Estas personas, saben quiénes son, GRACIAS POR TODO.

Índice

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	Pág 3
II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO	Pág 9
III. ANTECEDENTES	Pág 17
1. IMPORTANCIA DE LAS LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACIÓN	Pág 17
2. EVALUACIÓN DE LOS COMPONENTES DE INTERÉS NUTRICIONAL	Pág 20
2.1. Carbohidratos	Pág 21
2.1.1. Almidón	Pág 21
2.1.2. Fibra Alimentaria	Pág 28
2.2. Proteína	Pág 37
2.3. Compuestos Fenólicos	Pág 43
2.4. Factores Antinutricionales	Pág 52
2.4.1. α -Galactósidos	Pág 53
2.4.2. Ácido Fítico	Pág 58
2.4.3. Taninos	Pág 59
2.4.4. Inhibidores Enzimáticos	Pág 60
2.4.5. Lectinas	Pág 63
2.4.6. Otros componentes de interés nutricional	Pág 64
3. ALIMENTOS FUNCIONALES, TENDENCIAS Y FUTURO	Pág 65
3.1. La tecnología en el desarrollo de los alimentos funcionales	Pág 66
3.2. Tecnologías emergentes y perspectivas futuras	Pág 68
4. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: Beneficios y Aplicaciones	Pág 69
4.1. Efectos de la deshidratación en alimentos	Pág 70
4.2. Importancia de la estructura de los alimentos deshidratados	Pág 71
4.3. Aplicaciones	Pág 72
5. PAPEL DE LAS PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES EN HARINAS DE LEGUMINOSAS	Pág 78
5.1. Definición	Pág 78

5.2. Propiedades tecno-funcionales en alimentos sin procesar	Pág 79
5.3. Efectos del procesamiento de harinas de leguminosas en las propiedades tecno-funcionales	Pág 84
5.4. Futuras áreas de investigación	Pág 86
IV. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS	Pág 91
1. PREPARACIÓN INICIAL DE LA MUESTRA	Pág 91
2. PROCESADO DE LAS MUESTRAS	Pág 92
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	Pág 99
CAPÍTULO 1: ESTUDIO INICIAL DE CARACTERIZACIÓN DE LAS HARINAS DE LEGUMINOSAS	Pág 99
✓ Interés del Estudio	Pág 99
✓ Métodos Analíticos	Pág 99
• <i>Determinación de las Características Morfológicas</i>	Pág 99
• <i>Determinación de las Características Físicas</i>	Pág 99
• <i>Determinación de la Composición Química</i>	Pág 100
• <i>Análisis Estadístico</i>	
✓ Resultados	Pág 101
• <i>Características Morfológicas</i>	Pág 101
• <i>Características Físicas</i>	Pág 102
• <i>Composición Química</i>	Pág 103
CAPÍTULO 2: IMPACTO DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN INDUSTRIAL SOBRE LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES	Pág 109
✓ Interés del Estudio	Pág 109
✓ Métodos Analíticos	Pág 109
• <i>Determinación de Inositol Fosfato</i>	Pág 109
• <i>Determinación de Inhibidores Enzimáticos</i>	Pág 110
• <i>Determinación de Lectinas</i>	Pág 111
• <i>Determinación de α-Galactósidos (GOS)</i>	Pág 112
✓ Resultados	Pág 113
• <i>Inositol Fosfato</i>	Pág 113
• <i>Inhibidores Enzimáticos</i>	Pág 116

• <i>Lectinas</i>	Pág 118
• <i>α-Galactósidos (GOS)</i>	Pág 119
✓ Conclusiones	Pág 124
CAPÍTULO 3: INFLUENCIA DEL PROCESAMIENTO SOBRE LA FRACCIÓN FENÓLICA EN LAS HARINAS DE LEGUMINOSAS	Pág 125
✓ Interés del Estudio	Pág 125
✓ Métodos Analíticos	Pág 125
• <i>Análisis de Compuestos Fenólicos</i>	Pág 125
• <i>Determinación de la Capacidad Antioxidante</i>	Pág 128
✓ Resultados	Pág 130
• <i>Compuestos Fenólicos Totales</i>	Pág 130
• <i>Compuestos Fenólicos Pormenorizados</i>	Pág 133
• <i>Capacidad Antioxidante</i>	Pág 158
• <i>Análisis de Correlación entre Compuestos Fenólicos y Capacidad Antioxidante</i>	Pág 162
✓ Conclusiones	Pág 164
CAPÍTULO 4: EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN SOBRE LA FRACCIÓN DE CARBOHIDRATOS	Pág 167
✓ Interés del Estudio	Pág 167
✓ Métodos Analíticos	Pág 167
• <i>Determinación de Carbohidratos Solubles</i>	Pág 167
• <i>Determinación de Fibra Alimentaria</i>	Pág 167
• <i>Análisis Químico de los Componentes de la Fibra Alimentaria</i>	Pág 168
• <i>Almidón: Cuantificación y Caracterización Microestructural (Microscopía electrónica de barrido)</i>	Pág 169
✓ Resultados	Pág 171
• <i>Carbohidratos Solubles</i>	Pág 171
• <i>Fibra Alimentaria: Cuantificación enzimática-gravimétrica</i>	Pág 174
• <i>Fibra Alimentaria: Cuantificación enzimática-química</i>	Pág 178
• <i>Cuantificación de Almidón</i>	Pág 188
• <i>Caracterización Microestructural (Microscopía electrónica de barrido)</i>	Pág 192
✓ Conclusiones	Pág 197

CAPÍTULO 5: ESTUDIO DE LA FRACCIÓN PROTEICA EN LAS HARINAS PROCESADAS **Pág 199**

✓ Interés del Estudio	Pág 199
✓ Métodos Analíticos	Pág 199
• <i>Determinación de la Solubilidad del Nitrógeno en un intervalo de pH</i>	Pág 199
• <i>Determinación de la Solubilidad en H₂O y SDS</i>	Pág 200
• <i>Determinación de la Digestibilidad Proteica "in vitro"</i>	Pág 200
✓ Resultados	Pág 202
• <i>Solubilidad del Nitrógeno en un intervalo de pH</i>	Pág 202
• <i>Solubilidad en H₂O y SDS</i>	Pág 204
• <i>Digestibilidad Proteica "in vitro"</i>	Pág 209
✓ Conclusiones	Pág 211

CAPÍTULO 6: EVALUACIÓN DE PROPIEDADES TECNOLÓGICAS DE LAS HARINAS PROCESADAS **Pág 213**

✓ Interés del Estudio	Pág 213
✓ Métodos Analíticos	Pág 213
• <i>Determinación del pH</i>	Pág 213
• <i>Determinación de la Densidad Aparente (DA)</i>	Pág 213
• <i>Determinación de la Capacidad de Retención de Aceite (CRAc)</i>	Pág 214
• <i>Determinación de la Capacidad de Retención de Agua (CRA)</i>	Pág 214
• <i>Determinación de la Capacidad de Absorción de Agua (CA)</i>	Pág 214
• <i>Determinación de la Capacidad de Hinchamiento (CH)</i>	Pág 214
• <i>Determinación de la Capacidad Emulsionante (CEm)</i>	Pág 215
• <i>Determinación de la Capacidad Espumante (CE)</i>	Pág 215
• <i>Determinación de la Capacidad de Gelificación</i>	Pág 215
✓ Resultados	Pág 215
• <i>pH</i>	Pág 215
• <i>Densidad Aparente (DA)</i>	Pág 216
• <i>Capacidad de Retención de Aceite (CRAc)</i>	Pág 218
• <i>Capacidad de Retención de Agua (CRA)</i>	Pág 219

• <i>Capacidad de Absorción de Agua (CA)</i>	Pág 221
• <i>Capacidad de Hinchamiento (CH)</i>	Pág 223
• <i>Capacidad Emulsionante (CEm)</i>	Pág 225
• <i>Capacidad Espumante (CE)</i>	Pág 226
• <i>Capacidad de Gelificación</i>	Pág 228
✓ Conclusiones	Pág 230
VI. CONCLUSIONES GENERALES	Pág 235
VII. BIBLIOGRAFÍA	Pág 239
VIII. ANEXO	Pág 267
1. TABLAS	Pág 267
2. PUBLICACIONES	Pág 273

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

✓ *Capítulo 1*

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

(Cr): Crudo

(R): Remojo

(R+C): Remojo+Cocción

(R+C+D): Remojo+Cocción+Deshidratación

✓ *Capítulo 2*

AHP/AHL/AHC: Actividad de hemaglutinación de *Cicer arietinum*/actividad de hemaglutinación de *Phaseolus vulgaris*/actividad de hemaglutinación de *Lens culinaris*

BAPNA: N_α-benzoyl-DL-arginina-p-nitroanilida

GAPNA: N-glutaril-l-fenil-alanina-p-nitroanilida

GOS: α-galactósidos

HPLC: High performance liquid chromatography (cromatografía líquida de alta eficacia)

IgG: Anticuerpos de inmunoglobulinas

IP: Inositol Fosfato

OFD: o-fenil-diamina-H₂O₂

PBS: Tampón fosfato sódico

PBST: Tampón fosfato sódico en Tween 20

UH: Unidad de hemaglutinación

✓ *Capítulo 3*

A.U.: Unidades de Absorbancia

A.U.C: Area under the curve (area bajo la curva)

Abs: Absorbancia

CAT: Catequinas

HPLC-MS (ESI): Cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (interfase ionización por electrospray)

HPLC-PAD: Cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados

ORAC/ORACFL: Oxigen-radical absorbance capacity/ con fluoresceína

PC: Proantocianidinas totales

Procianidina B1: (-)-epicatequina-(4 β →8)-(+)-catequina

Procianidina B2: (-)-epicatequina-(4 β →8)-(+)-epicatequina

Procianidina B3: (+)-catequina-(4 α →8)-(+)-catequina

Procianidina B4: (-)-catequina-(4 α →8)-(-)-epicatequina

Trímero C1: (-)-epicatequina-(4 β →8)-(-)-epicatequina-(4 β →8)-epicatequina

UV-visible: Ultravioleta-visible

$\lambda_{\text{máx}}$: Longitud de onda máxima

✓ *Capítulo 4*

AU: Ácidos urónicos

Azúcares:

- Gluc=glucosa
- Xil=xilosa
- Gal/Ram=galactosa/ramnosa
- Ara=arabinosa
- Man= manosa

FI/FS/FT: Fibra Insoluble/Soluble/Total

MHDP: *m*-hidroxidifenilo

RIA: Residuo Insoluble en Alcohol

SEM: Scanning Electron Microscopy (microscopía electrónica de barrido)

TGO: Reactivo enzimático utilizado en la determinación de almidón

✓ *Capítulo 5*

SDS: Dodecil-sulfato de sodio

✓ *Capítulo 6*

CA: Capacidad de Absorción de Agua

CE: Capacidad Espumante

CEm: Capacidad Emulsificante

CG: Capacidad de Gelificación

CH: Capacidad de Hinchamiento

CRA: Capacidad de Retención de Agua

CRAc: Capacidad de Retención de Aceite

DA: Densidad Aparente

Introducción

I. INTRODUCCIÓN

“Deja que la comida sea tu medicina y la medicina tu comida”, Hipócrates.

La noción de alimentación equilibrada es un concepto fundamental, resultado de un siglo de investigaciones en nutrición realizadas a partir del descubrimiento de los nutrientes y de su importancia para el desarrollo y



crecimiento del cuerpo y su mantenimiento. Ha sido la principal fuerza impulsora de la elaboración de recomendaciones nutricionales y orientaciones alimentarias. No obstante, a comienzos del siglo XXI la ciencia de la nutrición afronta nuevos desafíos.

En épocas pasadas se consideraba que una alimentación equilibrada desde el punto de vista nutricional era la que prevenía las carencias. En este sentido, la alimentación en los países desarrollados se ha caracterizado por el abuso excesivo de proteínas y grasas animales, con una influencia negativa sobre el equilibrio idóneo de la dieta y con riesgos importantes para la salud. La dieta ideal sería, por



tanto, aquella que fuese capaz de garantizar el equilibrio perfecto, sin carencias ni excesos. Sin embargo, las carencias son habituales en sociedades con menores posibilidades económicas para acceder a los alimentos y, en contraposición, los problemas de sobrealimentación empiezan a ser preocupantes en los países más desarrollados.

Actualmente las sociedades prósperas han avanzado de tal forma que el concepto de alimentación equilibrada ha pasado a significar el consumo de una dieta óptima a base de alimentos que promuevan la salud y disminuyan el riesgo de enfermedades crónicas relacionadas con la alimentación. Se reconoce además que el alimento no sólo es necesario para el sustento y desarrollo del cuerpo, sino que también desempeña un papel clave en la calidad de la vida.

Este hecho expresa implícitamente que los alimentos y los componentes alimentarios pueden ejercer una influencia beneficiosa sobre las funciones fisiológicas al mejorar el estado de bienestar y salud, y reducir el riesgo de enfermedad. En este contexto se encuadran los denominados “alimentos funcionales”, cuya demanda por parte de los consumidores va en aumento, lo que les convierte en productos con un importante desarrollo en el mercado. Los alimentos funcionales no constituyen una entidad única, bien definida y correctamente caracterizada. De hecho, una amplia variedad de productos alimenticios se incluyen (o se incluirán en el futuro) en la categoría de alimentos funcionales.

El perfil del consumidor ha cambiado drásticamente en la sociedad actual; han surgido nuevas preferencias y necesidades del mercado. Son muchos los motivos para apostar por nuevos productos:

- Exigencias de nuevos sectores de población (población infantil, personas mayores, nuevas comunidades, globalización, influencia del turismo...) y de la industria alimentaria.
- Mejora de aspectos organolépticos (aroma, color, sabor, textura, jugosidad...).
- Aspectos nutricionales y de salud: alimentos dirigidos a determinados sectores de la población con requerimientos específicos (niños, embarazadas, tercera edad, personas con problemas cardiovasculares, etc.), reducción de ciertos nutrientes (grasas saturadas, sodio, azúcares,...) y/o incorporación de otros nutrientes (fibra alimentaria, vitaminas, minerales, etc.) o de compuestos bioactivos (antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados, etc.) que pueden reportar al consumidor un beneficio para la salud y una mayor calidad de vida.

La cada vez más diversificada industria alimentaria plantea necesidades de producción específicas para cada sector y producto, desarrollando nuevos productos que sean capaces de cubrir las exigencias nutricionales de aquellas personas que no pueden nutrirse adecuadamente con una alimentación normal y que requieren una suplementación o una dieta. De esta manera, determinados

sectores de población podrán optar a un amplio abanico de productos destinados a una mejora de la salud.

En España se estima que el 16% de la población tiene una edad superior a 65 años, porcentaje que se prevé del 20% en el 2020. Este grupo de población tiene un riesgo mayor de malnutrición debido a una serie de factores fisiológicos y sociales, siendo la disfagia un proceso muy frecuente en ancianos y enfermos de Alzheimer que puede alterar de una forma importante la calidad de vida y que agrava el problema de malnutrición. Por otra parte, enfermos celíacos, personas con diabetes, colon irritable o propensos a padecer cáncer de colon, son también grupos de población sensibles a determinados tipos de alimentación.

Diversos trastornos gastrointestinales pueden producir alteraciones en la secreción, en la sensibilidad gástrica y en la absorción de nutrientes. Aunque no siempre está implicada la dieta del individuo, los hábitos alimenticios y los tipos de alimentos que consumen juegan un papel importante en el inicio, tratamiento y prevención de muchos trastornos gastrointestinales.

La dieta, en la mayoría de los casos, influye en la reducción del dolor, corrige las deficiencias nutricionales y mejora el estado de bienestar del paciente y su calidad de vida. Una textura adecuada de los alimentos, facilitar la digestión de nutrientes o reducir la presencia de componentes perjudiciales son aspectos que producirían una mejora en el estado de bienestar y salud de dichos sectores de población.

Entre los diversos grupos de alimentos básicos se encuentran las leguminosas que forman parte de la dieta mediterránea y son de gran interés por su valor nutritivo, como fuente de proteína, carbohidratos, fibra, minerales, vitaminas hidrosolubles y compuestos fenólicos. No obstante, la presencia de compuestos antinutritivos (principalmente termolábiles) afecta a su digestibilidad, por lo que la aplicación de tratamientos tecnológicos (especialmente térmicos) incrementaría la digestibilidad y mejoraría el sabor y el aroma, las cualidades sensoriales y los atributos nutricionales. Además de las ventajas que se obtienen con la aplicación de tratamientos térmicos convencionales en las leguminosas, la aplicación de un tratamiento de deshidratación conllevaría una mayor seguridad microbiológica, un mayor tiempo de conservación (sin la necesidad de añadir ningún aditivo), así como un mejor manejo y almacenamiento (bajo peso, reducción de volumen).

Por otra parte, la industria alimentaria muestra en la actualidad un creciente interés en las leguminosas, no tanto por su valor nutritivo sino por las excelentes propiedades tecno-funcionales que presentan sus harinas, que constituye la base funcional de diversos productos principalmente los de bajo contenido proteico.

Por tanto, la aplicación de procesos de deshidratación industrial en legumbres sería una interesante opción para conseguir harinas funcionales, donde se mejoraría la calidad nutricional y donde el producto deshidratado obtenido se podría destinar a determinados sectores de la población, que padecen algunas de las patologías anteriormente mencionadas, o bien al enriquecimiento de alimentos.

Objetivo y Plan de Trabajo

II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO

Actualmente el concepto de alimento está basado no sólo en su aporte de nutrientes sino también en los beneficios que puede proporcionar a la salud, lo que repercute en la calidad de vida. A este respecto, las leguminosas, componente tradicional de la dieta mediterránea, constituyen un alimento de indudable interés desde el punto de vista nutricional y funcional. No obstante, los procesos a los que tienen que ser sometidas previamente a su consumo afectan a su composición y pueden modificar sus características nutricionales y saludables.

El **Objetivo General** de este estudio se centra en la caracterización, valoración nutricional y posibles aplicaciones de las harinas de leguminosas, -garbanzos, lentejas y judías-, obtenidas a partir de un proceso industrial de deshidratación. La cocción es el proceso más habitual al que se someten las legumbres, sin embargo, actualmente el consumo de harinas de leguminosas-grano deshidratadas está adquiriendo gran relevancia para la industria alimentaria. Las modificaciones que durante el proceso de deshidratación sufren los componentes de la matriz de la legumbre pueden, a su vez, reflejarse en las propiedades tecno-funcionales de las harinas, tema del que hoy en día existe escasa información.

En este contexto, surge la necesidad de caracterizar y clasificar estas materias primas en relación con sus propiedades nutricionales y sus beneficios para la salud, permitiendo así seleccionar la más idónea para su aplicación posterior en productos alimenticios destinados a grupos específicos de población.

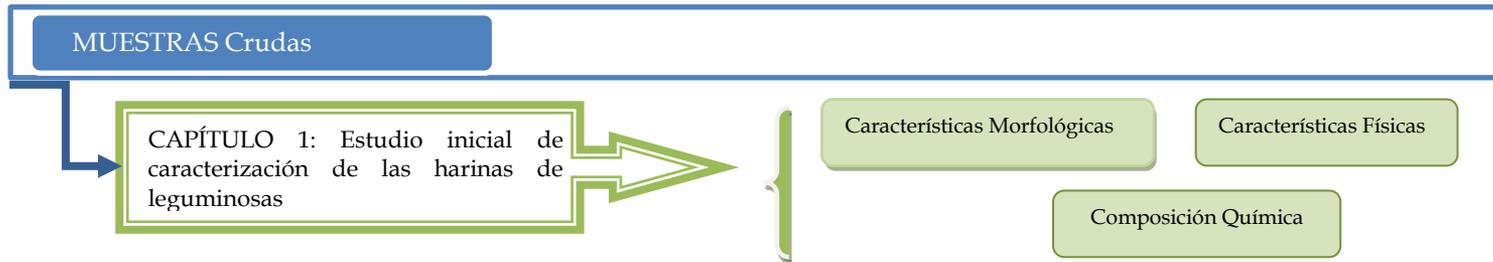
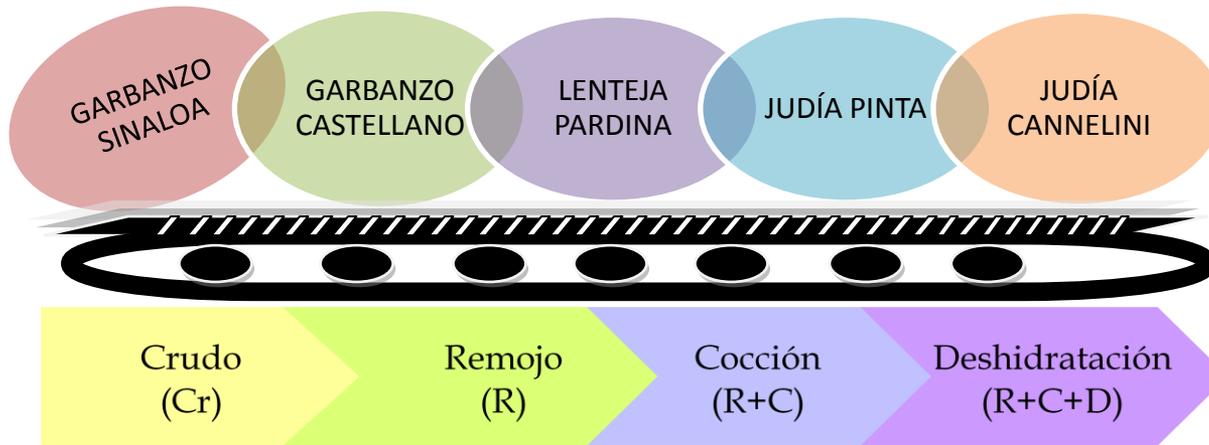
Este estudio pretende a su vez avanzar en el conocimiento de las modificaciones que el procesamiento industrial de deshidratación origina en los componentes de las leguminosas y en las propiedades tecno-funcionales de las harinas obtenidas a partir de ellas. Los resultados que derivan de esta investigación resultan de gran utilidad para la industria alimentaria y para que el consumidor disponga de información sobre los beneficios de incluir estas harinas procesadas en la dieta habitual.

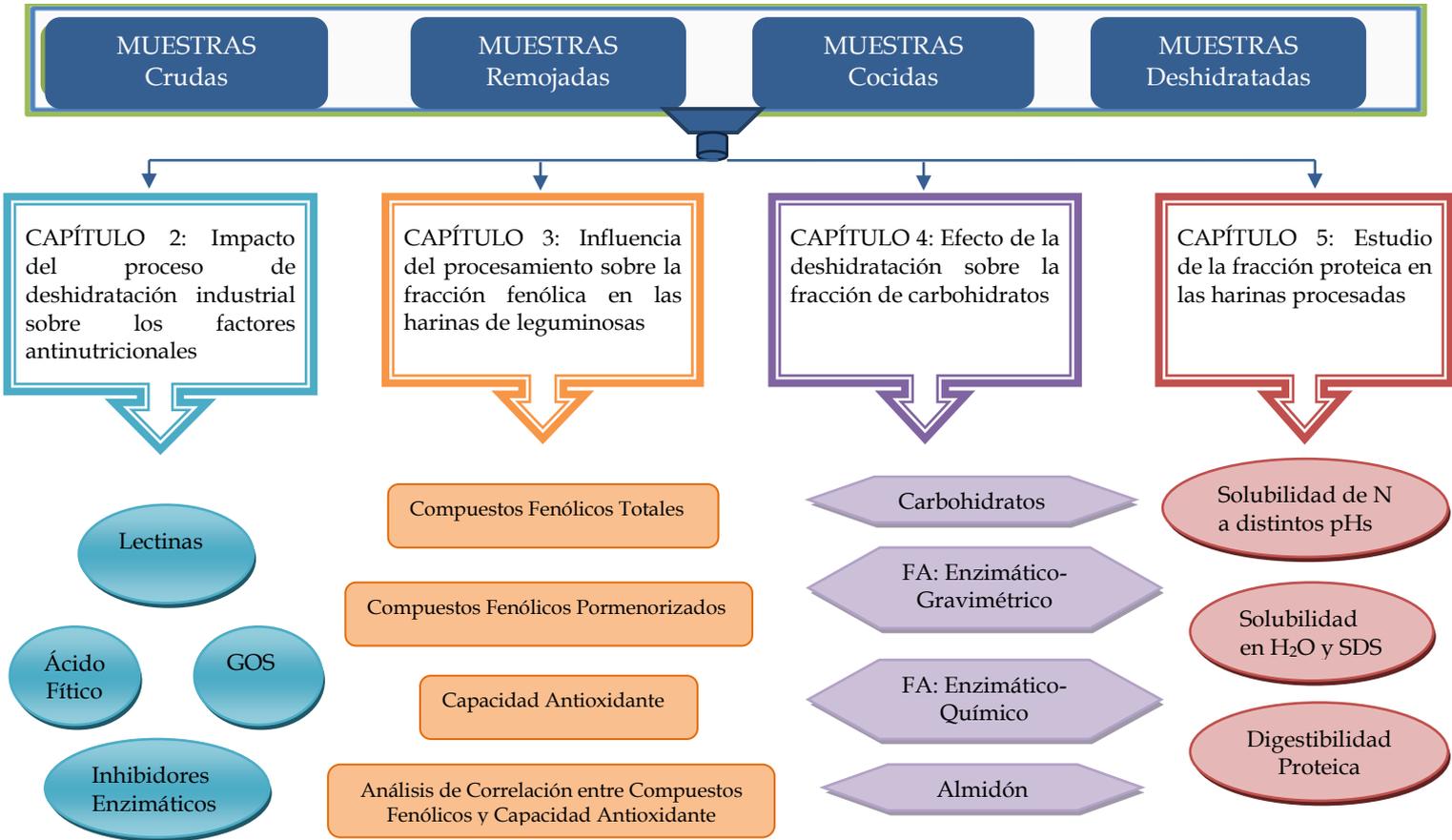
El objetivo global de este trabajo se concreta en los **Objetivos Específicos** que a continuación se relacionan.

- Caracterización inicial de las harinas de leguminosas de consumo generalizado (*Capítulo 1*);
- Evaluación del impacto del proceso de deshidratación industrial sobre los siguientes aspectos clave de la composición de las harinas:
 1. Presencia de factores antinutricionales (*Capítulo 2*);
 2. Variaciones en el perfil de los compuestos fenólicos (*Capítulo 3*);
 3. Modificaciones en la fracción de carbohidratos, destacando el estudio del almidón y de la fibra alimentaria como principales componentes (*Capítulo 4*); y
 4. Cambios en la solubilidad y digestibilidad de las proteínas (*Capítulo 5*);
- Evaluación de la repercusión del proceso de deshidratación sobre las propiedades tecnofuncionales de las harinas de leguminosas (*Capítulo 6*).

Este estudio forma parte del proyecto de investigación CAL03-042, *“Valoración de propiedades funcionales en materias primas vegetales, base de productos dietéticos, seguridad en su proceso de elaboración”*, enmarcado en las Acciones Estratégicas del Programa Nacional de Alimentación del Ministerio de Ciencia y Tecnología.

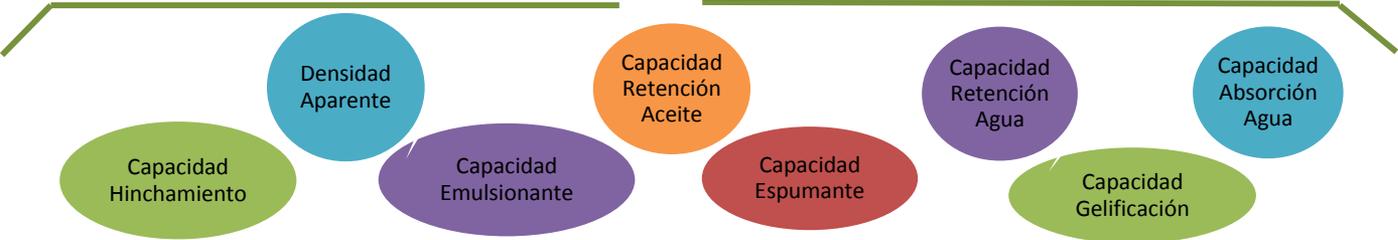
Para lograr estos objetivos se ha llevado a cabo el siguiente **Plan de Trabajo**:







CAPÍTULO 6: Evaluación de propiedades tecnofuncionales de las harinas deshidratadas



Antecedentes

III. ANTECEDENTES

1. IMPORTANCIA DE LAS LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACIÓN

Las legumbres que pueden ser utilizadas en alimentación humana y animal revisten una especial importancia nutritiva y económica debido a su presencia en la alimentación de millones de personas de todo el mundo

(FAO, 2003).



Las leguminosas tienen importancia desde el punto de vista agrícola por la superficie mundial que se dedica a su cultivo y por su capacidad para fijar el nitrógeno atmosférico debido a la simbiosis con la bacteria *Rhizobium*

del suelo, lo que permite elevar la fertilidad total del terreno, reemplazando parcialmente el uso de fertilizantes nitrogenados caros.

Junto con los cereales, han sido utilizadas por el hombre desde la más remota antigüedad y son esenciales para su alimentación, siendo habitual su consumo diario en la mayor parte del mundo. Presentan beneficios significativos para la nutrición humana y para la salud cuando se consumen con regularidad en dietas bien equilibradas, provocando una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes entre otras (Mazu y col., 1998; Zulet y Martínez, 2001). Solo una pequeña fracción de las 1300 especies existentes en la familia *Leguminosae* es destinada para la alimentación animal, principalmente soja, cacahuete y alfalfa (Tharanathan y Mahadevamma, 2003).

Las leguminosas han sido empleadas, en función de su composición, de forma directa como ingredientes de las dietas o de piensos compuestos para animales y, alternativamente, en la obtención de aceites vegetales, en la preparación de concentrados de proteína y en la formulación de comidas vegetarianas o de regímenes especiales. La industria alimentaria está continuamente ensayando tecnologías e ingredientes para producir nuevos

alimentos o mejorar algunas propiedades organolépticas, funcionales y nutritivas de los ya existentes, de tal modo que sean apetecibles para el consumidor y satisfagan sus necesidades.

La utilización de las legumbres como alimentos se concentra en los países en desarrollo, que representan el 90% del consumo mundial de legumbres destinadas a alimentación humana. Las legumbres revisten una importancia especial para los países de bajos ingresos y con déficit de alimentos, cuyas principales fuentes de proteínas y energía son los productos de origen no animal contribuyendo al 10% de las proteínas diarias recomendadas y un 5% del aporte energético de la población (FAO, 2003). Durante los años noventa, la utilización de legumbres en estos países aumentó a un ritmo anual del 2% hasta alcanzar los 32 millones de toneladas en 1999, frente a una tasa mundial de crecimiento del 0,3%. Alrededor del 75% de las legumbres en estos países se destina al consumo humano, mientras que el uso como pienso representa menos del 15%. En este sentido, en Junio del 2002, el Parlamento Europeo aprobó un informe sobre el fomento del consumo de proteínas vegetales en la Unión Europea, debido al aumento en la demanda en este tipo de proteínas (www.agrodigital.com, 2002).

La producción mundial de legumbres se estima en cerca de 61 millones de toneladas (Figura 1), siendo los países industrializados los que aportan la mayor producción. La Unión Europea es una importante productora de leguminosas superando la media mundial per cápita.

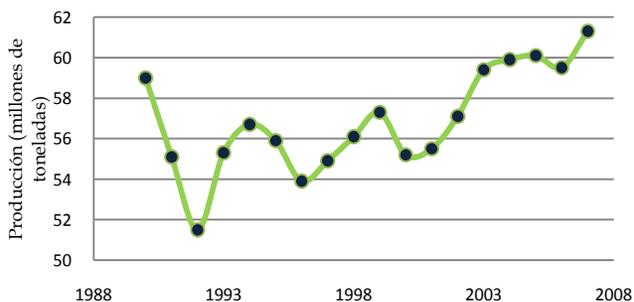


Figura 1. Producción mundial de leguminosas. Fuente: www.fao.org, 2009.

Sin embargo, España, a pesar de ser un país con gran superficie agrícola, importa hasta el 70% de la legumbre que se comercializa, la cual procede de diversos países (Canadá, Estados Unidos, Méjico, Argentina, Turquía...), debido principalmente a los precios tan competitivos que ofrecen. Por esta razón y para mantener las producciones autóctonas de calidad están cobrando importancia las Indicaciones Geográficas Protegidas, como, “Faba de Asturias”, “Judía del Barco de Ávila” o “Lenteja de Armuña”, provocando que el consumo no descienda e incrementando ligeramente año tras año.

El consumo de legumbres en España ha descendido de forma acusada a partir de los años sesenta. Las causas son múltiples, entre las que se encuentran el desarrollo del sector ganadero, el escaso interés del sector industrial en cuanto a la comercialización de semillas de leguminosas y la tendencia de los consumidores a elegir proteínas de origen animal. Sin embargo, en la última década el consumo en España se ha estabilizado, estableciéndose en el 2006 en 191,09 millones de kilogramos al año (Figura 2), destacando los garbanzos como la principal legumbre de consumo (71,77 millones de kg). Dichas cifras probablemente sean la consecuencia del gran énfasis de científicos y empresas alimentarias en el desarrollo de nuevos productos para introducir más fácilmente las legumbres en la vida moderna.

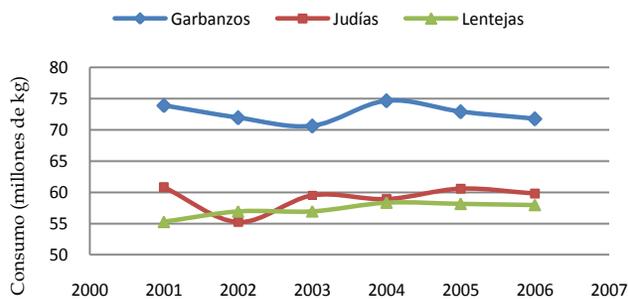


Figura 2. Evolución nacional de la producción de las principales leguminosas grano. Fuente: www.marm.es, 2009.

2. EVALUACIÓN DE LOS COMPONENTES DE INTERÉS NUTRICIONAL DE LAS LEGUMINOSAS

El valor nutritivo de las leguminosas se debe esencialmente a su contenido proteico, a la vez que son fuente importante de carbohidratos complejos, algunos de absorción lenta como el almidón y otros no digeribles como los componentes de la fibra alimentaria. Por otro lado, presentan un bajo contenido en lípidos (excepto en el caso de semillas oleaginosas), estando mayoritariamente constituidos por ácidos grasos poliinsaturados (Zulet y Martínez, 2001). Pero a pesar de que contienen innumerables propiedades nutritivas muy positivas, presentan una serie de compuestos antinutritivos que influyen negativamente en la calidad nutricional. Sin embargo, la composición de las leguminosas varía considerablemente entre las distintas especies, e incluso entre variedades dentro de una misma especie (McCance y Winddson, 1992). A continuación en la Tabla 1 se muestra la composición nutricional de las principales leguminosas de consumo humano.

Tabla 1. Composición nutricional (g/100g) de las principales leguminosas de consumo humano.

Leguminosa	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Humedad	Fibra	Energía (Kcal/100g)
Judías	17-23	1-2	45-59	8-12	25-27	286
Garbanzos	17-21	4-6	50-60	6-10	13-17	329
Guisantes	20-26	1-3	46-50	7-9	14-18	317
Lentejas	20-28	1-3	50-58	7-9	9-13	314
Habas	23-34	1-2	55-60	6-9	17-21	331
Soja	38-42	17-20	26-29	8-10	9-13	398

Fuente: Zulet y Martínez, 2001.

En la Figura 3 está representada la media de la composición nutricional de las leguminosas más importantes, destacando la fracción de almidón y proteína como las más abundantes respecto al total de los componentes. Son las fracciones mayoritarias y las que tendrán un mayor peso en las propiedades tecno-funcionales de las harinas de leguminosas.

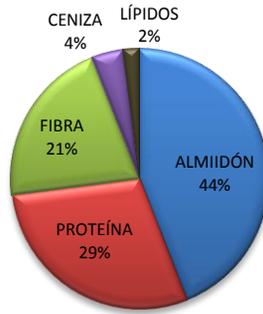


Figura 3. Representación gráfica del perfil nutricional de las leguminosas.

2.1 Carbohidratos

El valor nutritivo de las leguminosas se debe especialmente a su aporte en carbohidratos (24-68%), siendo el almidón el polisacárido mayoritario (Salunkhe y Kadam, 1989). También cabe destacar el papel que desempeña la fibra alimentaria y los efectos beneficiosos que produce debido principalmente a sus propiedades físico-químicas.

El procesamiento térmico puede influir de manera importante en los carbohidratos, especialmente en lo que se refiere a la velocidad de digestión, al alcance de la digestión del almidón en el intestino delgado y al contenido y las propiedades funcionales de los distintos componentes de la fibra alimentaria.

2.1.1. Almidón

Definición

El almidón es el principal constituyente de las leguminosas, a excepción de las semillas de soja, cacahuets y altramuces. Constituye la mayor reserva de polisacáridos de las plantas superiores y representa el 51-67% en judías, 25-50% en guisantes y 40-57% en lentejas (Salunkhe y Kadam, 1989). El almidón se encuentra localizado dentro de unos pequeños gránulos que presentan estructura cristalina, observado por microscopía con luz polarizada. Estos gránulos no son solubles en agua fría, aunque pueden absorber cierta

cantidad de agua originando un pequeño hinchamiento. Si son sometidos a altas temperaturas experimentan un ligero aumento de la viscosidad, debido a la formación de un gel por la adhesión de unos gránulos a otros.

El almidón está constituido por dos grandes polímeros: la amilosa, polisacárido no ramificado que presenta configuración helicoidal y la amilopectina, que es un polímero muy ramificado y con un mayor peso molecular (Figura 4). Sus propiedades funcionales vienen determinadas por la organización de estas macromoléculas en la estructura granular y por la relación amilosa/amilopectina que se establece en el gránulo de almidón. Desde un punto de vista tecnológico, la degradación del almidón por una amplia variedad de enzimas tales como α - y β -amilasas, glucoamilasas, pululanasas, etc., es la responsable del alto valor comercial del almidón en la producción de glucosa y oligodextrinas. Junto a la amilosa y amilopectina, se encuentran también cantidades variables de sales minerales, proteína y compuestos lipídicos (Vasanathan y Hoover, 1992).

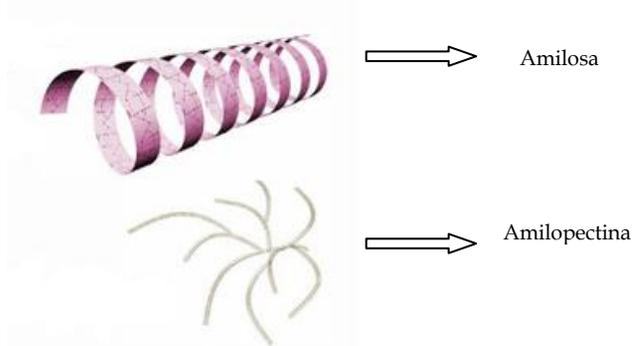


Figura 4. Estructura de los principales componentes del almidón.

Principales usos de las fracciones del almidón en la alimentación

El almidón tiene numerosas aplicaciones tanto en la industria alimentaria como en industrias no-alimentarias. Además del papel que desarrolla en la contribución energética, es el mayor responsable de la textura y las propiedades organolépticas que presentan muchos alimentos. Cabe destacar la capacidad de gelificación que posee y las propiedades relacionadas con ésta (comportamiento de fluido, envoltorio o suspensión de alimentos).

Los almidones de los alimentos comunes proceden de las semillas (como trigo, maíz, arroz y cebada) y las raíces (como patata y mandioca). Los almidones modificados químicamente se utilizan en cantidades menores como aditivos alimentarios (espesantes, gelificantes, agentes de recubrimiento, emulgentes y estabilizantes), debido a sus funciones tecnológicas en algunos alimentos, al influir en sus propiedades físicas. En la industria de las golosinas se utilizan almidones no gelatinizados para dar forma a distintas masas. Los almidones modificados con fosfatos se utilizan como espesantes en productos precocinados e instantáneos, así como en ciertos tipos de pudín y cremas de preparación en frío.

La producción de almidón procedente de legumbres es todavía pequeña si se compara con la producción total de almidón, la cual se sitúa en torno a los 6 millones de toneladas anuales. Sin embargo, las características que poseen los almidones que provienen de legumbres, y particularmente el contenido de amilosa, ofrecen un amplio potencial para nuevas aplicaciones, tanto para uso no alimentario como para nutrición humana. En el campo de la agroquímica y las industrias farmacéuticas se utiliza almidones de legumbres como agentes de encapsulación o material de cubierta para la elaboración de tabletas (Duranti, 2006).

Influencia del calor en las características del almidón. Digestibilidad

El procesamiento de los alimentos afecta a la estructura del almidón pudiendo provocar la gelatinización parcial o total, así como una parcial retrogradación. La aplicación de calor en presencia de agua produce la gelatinización del almidón, lo que conlleva una pérdida irreversible de la estructura cristalina de los gránulos, una pérdida total de la birrefringencia, un incremento en el tamaño de los gránulos (probablemente no uniforme), un aumento de la viscosidad, etc... (Ring y col., 1988). Este proceso incrementa de forma espectacular la disponibilidad del almidón para ser atacado por las enzimas digestivas.

Durante la cocción y otros procesos, los gránulos de almidón no están completamente disueltos, aunque el grado de gelatinización que

normalmente se alcanza es suficiente para permitir que se digiera rápidamente una gran proporción de almidón. Cuando este proceso queda incompleto, como en la cocción al vapor, permanece una gran proporción de almidón que se digiere lentamente.

El almidón gelatinizado no es estable, puesto que al pasar el tiempo o enfriarse, tiene lugar un proceso de reasociación de gránulos de almidón, conocido como retrogradación. La tendencia hacia la retrogradación del almidón depende de las proporciones relativas de amilosa y amilopectina (la amilosa se reasocia más rápidamente). El recalentamiento de los alimentos con almidón también influye en este proceso. La digestibilidad del almidón se ve por ello particularmente influenciada por el grado de procesamiento y la retrogradación, pudiendo reducirse la digestibilidad del almidón en el intestino delgado. El almidón retrogradado también se suma a la proporción de almidón resistente en los alimentos, por ejemplo, en las patatas cocidas y enfriadas.

El primer paso de la digestión ocurre en la boca, donde el alimento se pone en contacto con la α -amilasa salivar; una vez que llega al estómago se produce una inactivación de la enzima debido a las condiciones de acidez gástrica (Gray, 2003), aunque dicha hidrólisis se ve reanudada en el duodeno, donde la α -amilasa pancreática continúa con la ruptura de los enlaces α (1,4), produciendo pequeñas cantidades de glucosa en mezcla con maltosa, maltotriosa y dextrinas. La velocidad de la digestión del almidón viene determinada por las características físicas del alimento: forma, grado de cristalización de los gránulos de almidón, recristalización y características de retrogradación, los complejos amilosa-lípidos, contenido de inhibidores de α -amilasa y también por la presencia de polisacáridos no amiláceos. Estudios recientes (Edwards, 1995) han revelado que la digestibilidad del almidón depende en cierta parte de la fibra alimentaria que esté asociada, la cual provoca una disminución del tiempo de tránsito intestinal y por lo tanto, reduce el tiempo disponible para la digestión del almidón en el intestino delgado. Los factores responsables de la digestión incompleta del almidón han sido divididos en dos tipos: factores intrínsecos y extrínsecos.

Factores intrínsecos

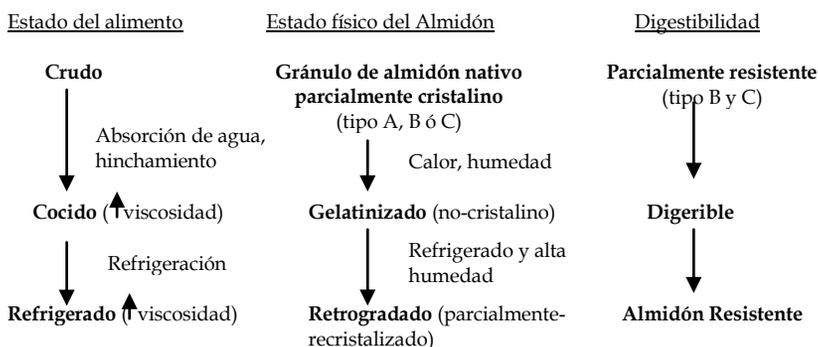
El tamaño de partícula del alimento puede afectar a la digestión del almidón por parte de las amilasas debido al área superficial. Así, partículas más pequeñas con mayor superficie relativa son digeridas más rápidamente que partículas mayores (Franco y Ciacco, 1992).

Otro factor que también afecta a la digestibilidad es la cristalinidad del almidón. Existen tres tipos de formas amiláceas, A, B y C, si nos basamos en las características del patrón de difracción de rayos X del almidón. El almidón de cereales es mayoritariamente del tipo A, mientras que el almidón de tubérculos muestra formas B, encontrándose almidón C en legumbres que se caracterizan por ser más resistentes a la digestión.

Factores extrínsecos

El acto de comer expone al alimento a distintos factores externos que podrían alterar la susceptibilidad del almidón a la acción de la amilasa. Un ejemplo de ello es el grado de masticación que determina el acceso físico al almidón que se encuentra en una estructura rígida. Existen otros factores como el tiempo de tránsito, la forma del alimento, la concentración de amilasa en el intestino, la cantidad de almidón y la presencia de otros componentes en el alimento que podrían afectar a la hidrólisis enzimática del almidón.

Por lo tanto, el patrón de la digestibilidad del almidón en relación a su estado físico y al procesado podría resumirse tal y como aparece en el Esquema 1.



Esquema 1. Patrón de digestibilidad del almidón en relación a su estado físico y al procesado.

Almidón Resistente

De acuerdo con la definición actual, el almidón resistente (AR) se define como: “almidón y productos de la degradación del almidón que no se absorben en el intestino delgado de los seres humanos sanos”. Mientras que el almidón fácilmente digerible es disociado por las amilasas del páncreas en 20 minutos, aproximadamente, el tiempo de degradación puede durar más de dos horas en el caso del almidón resistente. En el intestino grueso es donde se produce su fermentación de forma más o menos completa por la microflora; durante este proceso, además de metano, hidrógeno y dióxido de carbono, se forman ácidos grasos de cadena corta (ácidos acético, propiónico y butírico), con lo que no sólo se reduce el pH en el intestino grueso, sino que, como consecuencia de ello, también aumenta la cantidad de agua en las heces (Cummings y Macfarlane, 1991). Recientes estudios han investigado el papel de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en la salud. Se les ha atribuido diversos efectos fisiológicos beneficiosos en las enfermedades de colon, debido a su rápida absorción en la mucosa del intestino.

Respecto a la formación del almidón resistente, se requiere una longitud de cadena mínima de 30-40 unidades de glucosa. Mientras que la longitud de las cadenas de amilosa promueve la formación de AR, la presencia de lípidos impide su producción, debido a la creación del complejo almidón-lípido (Champ y col., 1999). El porcentaje de amilosa está directamente correlacionado con el AR, cuanto mayor es el contenido de amilosa, mayor contenido de AR. Las características de no digestibilidad que se le atribuyen, se deben en parte a las fuertes interacciones macromoleculares que se establecen entre las largas cadenas de amilosa y las cadenas ramificadas de la amilopectina (Figura 5).

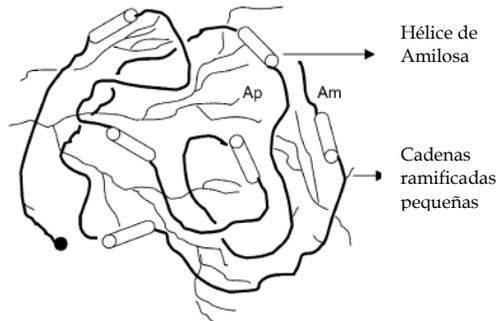


Figura 5. Posibles interacciones entre las cadenas de Am y Ap.
(Am= amilosa; Ap=amilopectina)

La proporción en la que se encuentra el almidón resistente en los alimentos no sólo varía dependiendo del tipo de alimento que estemos analizando, sino del tratamiento térmico al que le sometamos (ejemplo: patata fría y caliente), (Tabla 2).

Tabla 2. Proporción de almidón total y resistente en algunos alimentos.

Alimento	Almidón Total (g/100 g m.s.)	Almidón Resistente (g/100 g almidón total)
Pan blanco	77	1,2
Pan integral	60	1,7
Copos de maíz	78	3,8
Patata cocida y fría	74 75	6,8 13,3
Espaguetis cocidos	79	6,3
Guisantes cocidos	20	25
Habichuelas verdes cocidas	45	40

Fuente: Champ y col., (1999).

Se han identificado cuatro tipos de almidón resistente (Tabla 3): aquél que se encuentra inaccesible físicamente (AR1), gránulos de almidón nativos (AR2), almidón retrogradado (AR3) y almidón modificado químicamente (AR4).

Las legumbres son una de las principales fuentes de almidón resistente 1 (AR1), ya que la gruesa pared celular que tienen hace que el almidón sea inaccesible al ataque enzimático.

Tabla 3. Clasificación del almidón resistente (AR)

Almidón	Descripción	Fuente Alimentaria
AR1	El almidón que está físicamente encerrado, dentro de estructuras celulares intactas.	Granos parcialmente molidos y semillas.
AR2	Gránulos de almidón crudo.	Maíz, patata cruda y plátanos verdes.
AR3	La amilosa retrogradada en los alimentos preparados. Los almidones de los alimentos se pueden volver parcialmente indigeribles por procesos físicos o químicos y por enfriamiento.	Patata refrigerada, cocida, pan, cereales.
AR4	Almidón modificado químicamente.	Modificación inducida.

Fuente: Gray (2003).

2.1.2. Fibra Alimentaria

Definición

Los cereales, las legumbres, hortalizas, frutas y otras semillas son la mayor fuente alimentaria de fibra y de carbohidratos no digeribles.

La fibra alimentaria o dietética es una mezcla compleja de carbohidratos que están asociados a otros componentes no-carbohidratos (Figura 6). Consiste en el residuo vegetal no digerible, que incluye los polisacáridos no amiláceos y la lignina. La fibra alimentaria presenta una serie de propiedades físico-químicas que explican los efectos fisiológicos que se le atribuyen. No obstante, es difícil encontrar los términos exactos para definir la fibra alimentaria, no sólo por los componentes de ésta, sino también porque debe responder a sus propiedades físico-químicas y sus beneficios fisiológicos.

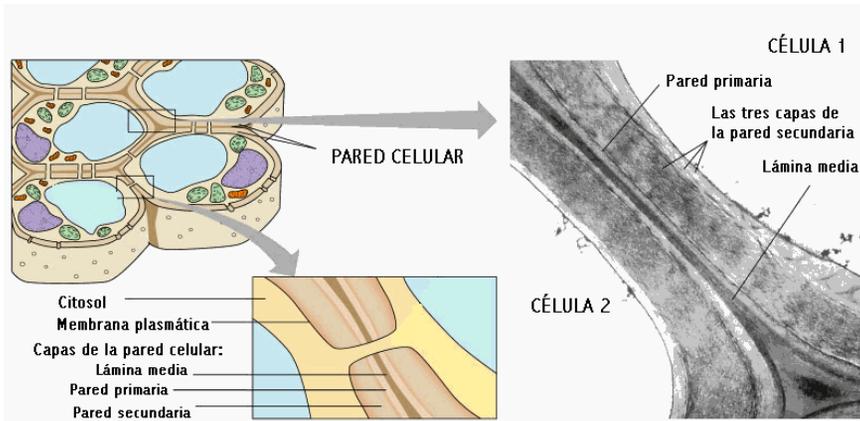


Figura 6. Estructura y partes de la pared celular, origen fundamental de la fibra alimentaria.

Según la última definición del Codex Alimentario (2006) la fibra alimentaria se definiría como carbohidratos de grado de polimerización ≥ 3 (donde se excluye a los mono- y disacáridos) resistentes a la digestión enzimática, los cuales no son absorbidos en el intestino delgado. Las fracciones de lignina y/u otros componentes, es decir, fracciones proteicas, compuestos fenólicos, ceras, saponinas, fitatos, cutina y fitoesteroles, están íntimamente asociados a los polisacáridos. En este caso, estas sustancias están incluidas en la definición de fibra alimentaria porque pueden proporcionar un efecto beneficioso adicional. Sin embargo, cuando estos compuestos se añaden a un alimento que contiene polisacáridos no digeribles, no pueden ser considerados como fibra porque no se encuentran estrechamente asociados, tal como se indicaba anteriormente.

En la Tabla 4. se muestran las principales fuentes de fibra alimentaria y de carbohidratos no digeribles, donde destacan los cereales y las legumbres.

Tabla 4. Componentes de la fibra alimentaria presentes en alimentos.

Componente de la fibra	Principal fuente alimentaria
Celulosa	Hortalizas, Plantas leñosas, cereales
Hemicelulosa	Granos de cereal
Lignina	Salvado de cereal, arroz y cubierta de legumbres, plantas leñosas
B-glucanos	Granos de cereales (avena, cebada, centeno y trigo)
Pectinas	Frutas, hortalizas, legumbres, azúcar de remolacha, patata
Gomas	Legumbres, algas, microorganismos (gomas guar, carragenanos, galactomananos, xantanos, arabinanos)
Inulina y oligofruktosas/fructo-oligosacáridos	Achicoria, cebollas
Oligosacáridos	Leche humana, legumbres
Galactooligosacáridos	Legumbres

Fuente: Gray (2006).

La terminología que diferencia fibra soluble (FS) e insoluble (FI) permite una útil y sencilla categorización de la fibra alimentaria con diferentes propiedades fisiológicas. Tradicionalmente se emplea el término fibras solubles porque muchas de ellas forman geles viscosos en el intestino delgado (pectinas y β -glucanos) y afectan principalmente a la absorción de glucosa y grasa. Por otro lado, las fibras con una gran influencia en el funcionamiento del intestino grueso, son las fibras insolubles (celulosa, parte de las hemicelulosas y lignina).

Efectos de la presencia de Fibra Insoluble en los alimentos

En el mercado existe una amplia variedad de fracciones de fibra alimentaria empleadas como suplementos con fines dietéticos o para la elaboración de

alimentos funcionales, como productos de panadería, galletas con alto contenido de fibra... Sin embargo, la inclusión de esta fracción en los alimentos podría provocar alteraciones no deseadas, principalmente en su sabor, textura y palatabilidad, debido a las modificaciones químicas, físicas o enzimáticas que sufren los polisacáridos presentes (Thompson, 2000).

Algunos autores han estudiado los efectos que la fibra insoluble procedente del salvado de trigo ejerce sobre el tracto intestinal. La fibra insoluble (FI) incrementa el volumen fecal, diluyendo su contenido, por lo que disminuyen las interacciones entre la mucosa intestinal y cualquier posible metabolito carcinogénico presente en las heces (Thebaudin y col., 1997). Además, la FI disminuye el tiempo de tránsito intestinal, reduciendo el tiempo de contacto de los mutágenos fecales con el epitelio intestinal. La FI se caracteriza por ser un sustrato fermentativo de la microflora digestiva, lo que provoca un aumento de su actividad y la modificación o reducción de la producción de mutágenos. Algunas fibras son capaces de adsorber agentes mutagénicos que son eliminados en las heces. A pesar de todos estos resultados, no se puede confirmar el papel anticarcinogénico de la fibra alimentaria.

Los mecanismos de mejora del control glicémico durante la ingesta de fibra alimentaria parecen estar relacionados con la absorción lenta de los carbohidratos, de manera que reduce o retrasa su absorción. Los alimentos con índice glicémico bajo, tales como las legumbres, pueden ser potencialmente útiles en la prevención y tratamiento de la diabetes tipo II y pueden mejorar la tolerancia a la glucosa, siendo también interesante para individuos con diabetes tipo I (Chandalia y col., 2000; Jenkins y col., 2003; Gray, 2006).

Efectos de la presencia de Fibra Soluble en los alimentos

La fibra soluble (FS) se caracteriza por poseer una viscosidad significativa que facilita el tránsito del alimento a través del intestino. La alta viscosidad de la FS puede influir en la absorción retrasando el vaciado gástrico, dificultando la mezcla en la parte superior del intestino delgado, cambiando el lugar de absorción y disminuyendo el tiempo de tránsito en el intestino

delgado. Así, se consigue un mayor control de los niveles de glucosa postprandial y de lípidos (Gray, 2006).

A la fibra soluble se le atribuye el papel protector contra el cáncer de colon, debido a la fermentación que realiza la microflora en el intestino grueso. También se ha estudiado cierta implicación en la disminución de los niveles de colesterol total y LDL en sangre. La retención de las sales biliares por la FS produce cambios en el metabolismo del colesterol, como pérdidas de colesterol, no disponibilidad de sales biliares para la formación de las micelas (lo cual inhibe la absorción de los lípidos y el colesterol), aumento de sales biliares en el bolo fecal en la parte baja del intestino delgado y producción de AGCC que provocan un bajo pH en el colon y previenen contra la diarrea, especialmente el propionato y butirato, los cuales exhiben beneficios específicos relacionados con una mejora de la salud.

En la Tabla 5 se recogen los estudios más destacados que verifican la relación de la Fibra Alimentaria (FA) y sus efectos beneficiosos en la salud.

Tabla 5. Fracciones de la fibra alimentaria y sus implicaciones en la salud.

Fracción Alimentaria	Efectos/Mecanismo	Implicación Fisiológica	Referencia
<i>FA y glucosa en sangre</i>			
FA	Reducción de la glucosa en sangre	Disminuye grado hiperinsulinemia (Diabetes II)	Chandalia y col., 2000
FA	Absorción de nutrientes ralentizada	Mejora tolerancia a la glucosa (Diabetes I)	Holt y col., 1996
AGCC	Disminución de la glucosa postprandial y respuesta insulínica	Regula el metabolismo de la glucosa	García y col., 2002
<i>FA y Colesterol Sanguíneo</i>			
AGCC como resultado de fermentación de la FS	Regulación del metabolismo de la glucosa y los lípidos	Reduce la síntesis del colesterol hepático	Anderson y Hanna, 1999
FS	Disminución de la reabsorción de ácidos biliares	Reducción del colesterol en plasma	Anderson y Major, 2002
<i>FA y Función Colónica</i>			
FA (FS y FI)	Gran capacidad de retención de agua	Incrementa el volumen fecal	Johnson, 2000; Mälkki, 2001
FA		Prevención colon irritable	Mongeau y col., 1999
<i>FA y Promoción de la Saciedad</i>			
FA	La FA tiene una menor densidad calórica y mayor volumen	Limitación espontánea de la ingesta	Saris, 2003
FA	Mayor volumen del alimento	Ingesta lenta, efecto de saciedad temprana	Slavin, 2005
FA	Saciedad temprana	Reducción de peso	Mälkki, 2001
<i>FA y Prevención contra el Cáncer</i>			
FS	Dilución y unión a carcinógenos potenciales y reducción de ácidos biliares	Prevención de cáncer de colon	Bingham y col., 2003; Peters y col., 2003; Gray, 2006

Fuente: Gray (2006).

Influencia del procesamiento en el contenido y la composición de la fibra alimentaria

Existe numerosa bibliografía dedicada al estudio de las modificaciones experimentadas por los componentes de los alimentos después de haber sido sometidos a procesamiento térmico (Vidal-Valverde y col., 1998; Sánchez-Mata y col., 1999; Egonlety y Aworh., 2003). En el caso de las legumbres, la pared celular es el principal determinante de la textura. El conocimiento de los cambios que se producen en la pared celular como consecuencia del tratamiento de cocción y procesado de los alimentos, es fundamental para conocer las modificaciones de la fibra y su papel en la dieta (Selvendran y Robertson, 1994). Los efectos ocasionados en las fracciones de fibra, dependen tanto de la fuente de fibra como del tipo de procesamiento. Diversos estudios sobre los efectos del procesamiento en fibra alimentaria de cereales y verduras, indican que la estructura de la misma se modifica (Chang y Morris, 1990) y, por tanto sus efectos fisiológicos cambian. Según Selvendran y Robertson (1994), la gran variedad de plantas, así como de órganos y tejidos de las mismas que se utilizan como alimentos, hace difícil poder generalizar sobre los efectos del cocinado y procesamiento en la fibra alimentaria, pero las principales consecuencias del cocinado pueden resumirse en las siguientes:

- Ruptura de la membrana celular con la consiguiente liberación de los contenidos celulares, lo cual cambia marcadamente el entorno de la pared celular y afecta a la estabilidad de los polisacáridos que la constituyen.
- Modificación de los polisacáridos de la pared celular, como resultado de los tratamientos con calor y de la ruptura de los polisacáridos térmicamente lábiles, tales como los polisacáridos pécticos, y de los enlaces cruzados.

En cuanto a los alimentos procesados, las legumbres junto con las frutas y hortalizas constituyen la principal fuente de polisacáridos pécticos de la fibra alimentaria en la dieta. Estos compuestos, se degradan durante el cocinado y procesamiento, particularmente los situados en el cotiledón de las semillas de

leguminosas. La ruptura de enlaces glucosídicos de los polisacáridos de la fibra por el calor, da lugar a una solubilización de fibra inicialmente insoluble. Asimismo, las fibras solubles de alto peso molecular pueden ser degradadas a fragmentos más pequeños, o puede ocurrir una despolimeración más importante y esta fracción no precipitará en etanol, por lo que no será cuantificada como fibra (Chang y Morris, 1990). Además de la solubilización, los tratamientos con calor pueden ocasionar un aumento del contenido de fibra, como consecuencia de la formación de algunos compuestos como almidón resistente y productos de la reacción de Maillard (Marlett y Vollendorf, 1993).

Se puede concluir que los diferentes tipos de procesamiento ocasionan efectos muy variables sobre la fibra presente en las legumbres. Este tipo de estudios resulta interesante, ya que la mayor parte de la fibra que consumimos es procesada, modificando no sólo el contenido y la composición, sino también las propiedades sensoriales, tencno-funcionales y nutricionales de la fibra alimentaria.

Alimentos enriquecidos con fibra

Por todos es conocida la idea de que una dieta con un aporte adecuado de fibra alimentaria es siempre beneficiosa. No obstante, existen determinadas poblaciones que no consumen alimentos ricos en fibra, por lo que surgió la necesidad de enriquecer en fibra aquellos alimentos atractivos para el consumidor y de alto consumo.

Su principal objetivo es obtener productos que satisfagan los gustos del consumidor y que hayan sufrido el menor número de alteraciones en su aspecto, textura, aroma y sabor. La fibra alimentaria se usa generalmente como agente espesante o de textura debido a su alta capacidad de retención de agua o grasa aportando al alimento una gran estabilidad. De esta forma, la adición a alimentos de fibras alimentarias aisladas o sintetizadas a partir de carbohidratos indigeribles, tales como oligosacáridos (fructooligosacáridos, galactooligosacáridos, oligofructosa, povidextrosa...), puede en muchos casos reemplazar a los aditivos alimentarios, ofreciendo los beneficios que conlleva

un alimento prebiótico. La proporción en la que se encuentra en el alimento suele ser del 1-5% del peso final del producto (Figura 7). Estos nuevos productos han de paliar el déficit en la ingesta de fibra en la dieta, así como contribuir a la eliminación de subproductos de la industria agroalimentaria (Gray, 2006).

	Fibra *	Consumo Diario Recomendado**
 Cereales enriquecidos	7,1	28%
 Pasta enriquecida	6,3	25%
 Pan enriquecido	3,8	15%

* Pasta enriquecida: cantidad aproximada para 1 taza de pasta.
 Cereales enriquecidos: cantidad aproximada para 1 taza con cereales deshidratados.
 Pan: cantidad aproximada de 2 rebanadas.
 ** Consumo Diario Recomendado: 25 g fibra/día

Figura 7. Ejemplos de alimentos enriquecidos con fibra

Las alteraciones organolépticas que se producen en algunos casos son evitables, como el escaso olor originado en muchos alimentos debido al aporte de material fibroso, mediante la adición de aromas como por ejemplo la vainilla. En otros no es posible, por lo que la única solución es estudiar qué tipo y cantidad de fibra se puede añadir sin producir cambios en las características de los alimentos. Ejemplos de alimentos enriquecidos con fibra son pan, galletas, productos lácteos,... aunque también se han encontrado nuevos usos en alimentos como “mousses” enriquecidas, gelatinas o bebidas que emulan a postres sabrosos.

El aprovechamiento de los subproductos por parte de las industrias agroalimentarias es un aspecto de suma importancia, ya que la mayoría de los subproductos presentan altos contenidos en fibra. La utilización de estos materiales supone una importante rentabilidad económica posibilitando nuevos productos con mayor valor añadido. La búsqueda de fuentes alternativas de alimentos es, sin duda, uno de los objetivos actuales en la

comunidad científica. También desde el punto de vista ecológico, la eliminación de subproductos disponibles en grandes cantidades, supondría una ventaja de relevante impacto medioambiental (Esteban y col., 1998; Guillón y Champ, 2002).

2.2. Proteína

El elevado contenido proteico en la mayoría de especies de leguminosas convierte a esta familia en la principal fuente de proteína vegetal para el hombre (Cubero y Moreno, 1983). El porcentaje medio de contenido en las legumbres se sitúa entre el 20-25%, observándose valores de hasta un 40% en el caso del altramuza. La mayoría de estas proteínas (80%) se encuentra en forma de proteínas de almacenamiento, siendo principalmente globulinas (Rubio y col., 2004).

Hasta ahora se creía que las proteínas eran degradadas en el tracto gastrointestinal convirtiéndose en aminoácidos, los cuales eran absorbidos y utilizados por el hígado y, posteriormente, empleados para la síntesis de proteínas o bien como almacenamiento. Sin embargo, recientemente este concepto ha sido modificado como consecuencia de numerosas observaciones científicas que indican que las proteínas de la dieta una vez que entran en el organismo pueden influir significativamente en numerosas funciones fisiológicas, interaccionando con distintos componentes. El ejemplo más conocido son probablemente las lectinas y los inhibidores de proteasas (explicados en capítulos posteriores) (Rubio y col., 2004).

Calidad nutricional de las proteínas de leguminosas

La digestibilidad y el valor biológico de las proteínas de leguminosas si se compara con las de origen animal son algo inferiores debido a su baja digestibilidad, a su deficiencia en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína) y a la presencia de factores antinutritivos (Belitz y Grosh, 1997). Sin embargo, en el caso del garbanzo el contenido de cisteína y metionina es

bastante superior al del resto de legumbres, lo que en parte explica la mejor calidad proteica del garbanzo respecto a las demás leguminosas.

Para entender plenamente la calidad nutricional de las proteínas de leguminosas, hay que analizar las distintas razones por las cuales las legumbres presentan una baja digestibilidad proteica:

- Deficiencia de aminoácidos azufrados (principalmente metionina);
- Naturaleza compacta de las proteínas de reserva mayoritarias;
- Presencia de antinutrientes:
 - ✓ Inhibidores enzimáticos (inhibidores de tripsina y quimotripsina);
 - ✓ Lectinas (fitohemaglutininas);
 - ✓ Ácido fítico;
- Impedimento estérico de los azúcares que están presentes en la mayoría de las proteínas de reserva (glicoproteínas);
- Compuestos fenólicos, que establecen uniones con las proteínas (enzimas digestivas incluidas) afectando al grado de proteólisis;
- Presencia de minerales, mediadores entre las interacciones de fitatos y proteínas, formando complejos proteína-fitato-mineral resistentes a la proteólisis;
- Interacciones proteína-proteína: las proteínas solubles en agua (fracción de albúminas) interactúan con las proteínas de reserva, provocando un descenso de la velocidad de proteólisis;
- Baja digestibilidad de las proteínas solubles en agua;
- Descenso de la actividad proteolítica debido a interferencias físicas por la presencia de fibra alimentaria.

Por lo tanto, una de las causas que influye en la digestibilidad proteica es la presencia de ciertos antinutrientes como por ejemplo las lectinas, que se caracterizan por su capacidad de aglutinación "*in vitro*" de eritrocitos y la gran resistencia que presentan frente a la proteólisis. Asimismo, la presencia de otras glicoproteínas presentes en judías pueden ser las responsables de la baja digestibilidad proteica debido a las interacciones proteína-proteína

(Genovese y Lajolo, 1996). No obstante, la digestibilidad y el valor biológico de las proteínas de judías deshidratadas son normalmente inferiores a las de proteínas de origen animal (Sathe, 2002). Sin embargo, las proteínas pueden ser fácilmente desnaturalizadas e inactivadas durante un tratamiento térmico (Sathe, 2002).

Las alergias relacionadas con el consumo de legumbres son poco comunes en humanos, debido a la baja capacidad alergénica de las proteínas de almacenamiento (Lallés y Peltre, 1996). No obstante, se podría desarrollar cierta alergia con el incremento del consumo de leguminosas, como es el caso de la soja. Asimismo, estudios referentes a modificaciones proteolíticas y enriquecimientos con metionina procedentes de proteína de soja, revelan una reducción de la alergia y una mejora en el valor alimentario del producto derivado de soja (Hajós y col., 1996).

Solubilidad proteica

Tradicionalmente, la clasificación de las proteínas vegetales se basa en sus propiedades de solubilidad: las albúminas se caracterizan por ser solubles en agua, las globulinas son solubles preferentemente en soluciones acuosas con sales, las prolaminas son solubles en soluciones de etanol/agua y las glutelinas solubles a pHs extremos ácidos o básicos (Osborne, 1924). Esta clasificación todavía sigue en vigor, debido especialmente a la relación que guarda con las propiedades tecno-funcionales de las proteínas.

De todo el contenido de nitrógeno presente en una muestra, tan sólo una parte es soluble. El porcentaje de nitrógeno insoluble es significativo pero difiere de una variedad a otra, así como de una leguminosa a otra. Asimismo, el nitrógeno soluble engloba al nitrógeno procedente de proteínas (N-Proteico) y aquél que pertenece a otras estructuras nitrogenadas no proteicas tales como alcaloides, amidas, aminas... Por tanto, es importante distinguir por un lado entre N-Proteico y no Proteico, y por otro entre N-Soluble e Insoluble, ya que en función de ello las características fisicoquímicas de las legumbres variarán (Ariza, 1999).

El estudio de los perfiles de solubilidad proteica en un intervalo de pH está siendo el objeto de estudio de diversos autores para lograr una mayor comprensión de la funcionabilidad proteica. Se han determinado algunas correlaciones entre las características funcionales de las harinas de soja y los índices de solubilidad del nitrógeno. Generalmente, la propiedad tecnofuncional que presenta una mayor relación con las proteínas solubles en la soja, es la capacidad emulsionante. La capacidad espumante en productos elaborados a partir de harinas de soja, también se ha correlacionado con el nitrógeno soluble en agua (Singh, 2001).

La mayoría de las proteínas de legumbres se caracterizan por tener puntos isoeléctricos ácidos, debido al alto contenido de residuos de ácidos glutámico y aspártico, lo que las hará más solubles en medios acuosos básicos (pH 8,5-10). Sin embargo, la carga de los aminoácidos que estructuran las proteínas se verá alterada con el procesado de las leguminosas, pudiendo variar el contenido de aminoácidos ácidos, básicos, hidrofóbicos o sin carga una vez que se produce la solubilización de los mismos tras un tratamiento térmico (Carbonaro y col., 1997). Por lo tanto, la solubilidad proteica se verá influenciada en gran medida por los procesados térmicos debido principalmente a la desnaturalización que sufre la proteína, jugando un papel importante en la determinación de la digestibilidad proteica en las leguminosas.

Es, por todo ello, que el estudio de la fracción proteica tiene un gran interés, así como su distribución en función de sus características de solubilidad. La diferenciación de nitrógeno proteico y no proteico es de gran importancia nutricional para así conseguir determinar el contenido proteico presente en un alimento que puede ser digerido y absorbido en el tracto digestivo del animal y del hombre.

Efecto del procesado térmico en la calidad nutricional y tecnológica de las proteínas de legumbres

La eliminación de componentes no deseables es esencial para mejorar la calidad nutricional de las legumbres y aprovechar todo su potencial. Por lo

tanto reducir la presencia de componentes antinutritivos de naturaleza proteica tales como lectinas e inhibidores proteicos mediante tratamientos tecnológicos o mediante procesos catalíticos mediados por enzimas endógenas, conllevaría a un incremento de la calidad nutricional de las leguminosas (Reddy y col., 1988). Los procesados térmicos de las legumbres no solamente provocan modificaciones en la composición química, nutricional y en las propiedades organolépticas sino que también conllevan pérdidas y transformaciones en los aminoácidos esenciales (Wu, 1995). Una vez que las proteínas han sido desnaturalizadas como consecuencia de la aplicación de calor, se van a ver afectadas las propiedades tecno-funcionales, las cuales están directamente relacionadas con las características físico-químicas, principalmente la disociación de las proteínas en sus subunidades, dando lugar a una mayor exposición de los grupos hidrofóbicos. La desnaturalización térmica está normalmente acompañada de una reducción de la solubilidad, debido probablemente a la agregación de moléculas no desplegadas. Como consecuencia de todos estos cambios, varias propiedades funcionales se verán alteradas, como la capacidad de gelificación, las propiedades reológicas de los geles, las capacidades espumantes y emulsificantes, tal y como se muestra en algunos estudios sobre proteínas de soja (Yamagishi y col., 1980; Iawabuchi y col., 1991). No obstante, las modificaciones químicas son importantes ya que pueden mejorar las propiedades funcionales de las proteínas en los alimentos.

Variaciones extremas en las condiciones de la desnaturalización proteica (pH, fuerzas iónicas, presencia de grupos sulfhidrilo o disulfuro, temperatura, tiempo de aplicación de calor y tasa de enfriamiento) pueden afectar significativamente a la funcionalidad de la proteína y como consecuencia a su función tecnológica en el alimento.

Desarrollo y perspectivas en la producción y utilización de proteínas de leguminosas

En los últimos años la aplicación de distintas tecnologías ha permitido la obtención de productos con una elevada cantidad de proteína. Los

concentrados y aislados proteicos más extendidos son los de soja (Henn y Netto, 1998; Friedman y Brandon, 2001), aunque actualmente se han producido aislados proteicos de garbanzo (Sánchez-Vioque y col., 1999), judías (Chau y col., 1997), altramuza (Lqari y col., 2002) y lentejas (Fernández-Quintela y col., 1993). Estos concentrados son empleados por la industria alimentaria ya que ofrecen ventajas económicas, nutricionales y funcionales, manteniendo las cualidades sensoriales deseables necesarias para la aceptación por el consumidor.

Actualmente el estudio de proteínas de almacenamiento y sus genes en legumbres está cobrando un importante papel en el establecimiento y desarrollo de técnicas de biología molecular en plantas, debido probablemente a las ventajas que presenta la síntesis masiva de pocas proteínas en órganos específicos durante el desarrollo de la semilla (Duranti y Gius, 1997).

Las aplicaciones más importantes son como mejoradores en la industria cárnica (sustitutos o complementos de la proteína animal), en fórmulas infantiles (Fernández-Quintela y col., 1993; Vioque y col., 2001) y también para mejorar la textura de los productos de panadería y pastas o en el procesado de quesos (El-Sayed, 1997).

Investigaciones recientes han atribuido a las proteínas de leguminosas propiedades nutraceuticas, por sus efectos beneficiosos en la salud, principalmente su papel protector frente a determinadas enfermedades (Duranti, 2006). Existen algunos estudios que relacionan fracciones específicas de proteínas, como la subunidad α de la globulina 7S, con la reducción del colesterol en sangre y los niveles de triglicéridos (Fukui y col., 2002). Además las proteínas de leguminosas se han visto asociadas a la reducción del riesgo cardiovascular, como es el caso de la soja (Anderson y Major, 2002), a un efecto anticarcinogénico como consecuencia de la presencia de lectinas e inhibidores de proteasa en distintas legumbres (Clemente y col., 2004), a la prevención de obesidad y diabetes debido a la acción del inhibidor de α -amilasa (Oneda y col., 2004; Suzuki y col., 2003; Muri y col., 2004) y a una capacidad de transporte de minerales que mejoran

su absorción, en lupino, por la presencia de γ -conglutina (Duranti y col., 2001).

Debido al gran potencial e impacto de los numerosos estudios sobre la influencia de las fracciones proteicas sobre la salud, diversos autores han centrado sus investigaciones en analizar la presencia, caracterización y propiedades que poseen ciertos péptidos bioactivos. Ejemplo de ello son las investigaciones en soja acerca del papel protector que tienen frente a las enfermedades crónicas relacionadas con la edad (Wang y González de Mejia, 2005), o frente a la leucemia (Wang y col., 2008).

Por lo tanto, las proteínas de las leguminosas pueden tener un papel muy destacado en la industria alimentaria tanto en alimentos procesados como en la elaboración de nuevos productos texturizados destinados al consumo humano.

2.3. Compuestos Fenólicos

Definición

Las legumbres poseen diferentes tipos de compuestos fenólicos que varían dependiendo no sólo de la especie sino también de la variedad. Entre este grupo de compuestos los que más se han estudiado en leguminosas son los taninos condensados o proantocianidinas, que hasta hace pocos años eran considerados antinutrientes debido a su facilidad para combinarse con proteínas, produciendo un aprovechamiento deficiente de dichos nutrientes (Liener, 1994; Bartolomé y col., 2000). Sin embargo, estudios recientes asignan a los compuestos fenólicos determinadas propiedades fisiológicas beneficiosas (Ricardo da Silva y col., 1991; Vinson y col., 1995; Castillo y col., 2000).

Los compuestos fenólicos incluyen un gran número de sustancias sumamente heterogéneas, que se caracterizan por poseer un anillo aromático con, al menos, una sustitución hidroxilo y una cadena lateral funcional (Figura 8).

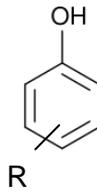


Figura 8. Estructura química básica de los compuestos fenólicos.

Estos compuestos están ampliamente distribuidos en todo el reino vegetal; en las plantas superiores es tal su presencia, que sólo son superados por los carbohidratos. Se encuentran en todos los tejidos, mostrando una gran diversidad de estructuras. Los compuestos fenólicos, junto con otros muchos compuestos naturales como terpenos, alcaloides, aminoácidos no proteicos, etc., son considerados metabolitos secundarios, porque no poseen un papel reconocido en el mantenimiento de los procesos fundamentales de la vida (crecimiento, desarrollo y reproducción) de los organismos que los sintetizan (Bell, 1981). Casi todos los tejidos de las plantas contienen mezclas complejas de polifenoles, que se pueden encontrar en estado libre o unidos a hidroxiácidos y azúcares. Desde un punto de vista químico, los glicósidos se diferencian de las agliconas porque presentan mayor solubilidad en agua y menor reactividad química (Hoesel, 1981). El modo más simple de unión al azúcar es como β -D-glicopiranosidos, aunque existen una gran variedad de uniones glicosídicas diferentes. La conversión de polifenoles conjugados en polifenoles sencillos puede ocurrir durante los periodos de senescencia de las plantas, maduración de frutos, etc. El uso de técnicas analíticas y de marcadores radioactivos ha permitido medir la dinámica de estos metabolitos secundarios (Barz y Hoesel, 1981) y saber que los compuestos fenólicos en las plantas superiores están sujetos a procesos de síntesis y degradación que tienen lugar simultáneamente en la planta.

Estructura y Clasificación

Los compuestos fenólicos se agrupan en clases o familias, en base a su esqueleto carbonado, siendo las más importantes las que se detallan a continuación.

Compuestos fenólicos no flavonoideos

C_6	Fenoles sencillos
C_6-C_1	{ Alcoholes, aldehidos, cetonas y ácidos benzoicos Acetofenonas
C_6-C_{12}	{ Alcoholes y ácidos fenilacéticos Ácidos mandélicos
C_6-C_3	{ Alcoholes, aldehidos y ácidos cinámicos Alcoholes y ácidos 3-fenil-1-propanoicos Cumarinas Isocumarinas Cromonas

Compuestos fenólicos flavonoideos

$C_6-C_3-C_6$	{ Calconas, dihidrocalconas Flavonas, flavanonas Isoflavonas Flavonoles, flavanonoles Antocianos Auronas Flavanoles
---------------	---

Compuestos fenólicos polimerizados

$(C_6-C_1)_n$	Taninos hidrolizables
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Taninos condensados
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas

Compuestos fenólicos minoritarios

C ₆ , C ₁₀ , C ₁₄	Quinonas
C ₆ -C ₁ -C ₆	Benzofenonas, xantonas
C ₆ -C ₂ -C ₆	Estilbenos
C ₃₀	Biflavonoides

Compuestos fenólicos no flavonoideos

Este grupo de compuestos, también conocido como compuestos fenólicos de bajo peso molecular, contiene un único anillo bencénico que, dependiendo de la cadena lateral y grupo funcional, da lugar a diversas estructuras, siendo las más frecuentes las que se recogen en la Figura 9. Algunos de los grupos hidroxilo pueden estar también metoxilados.

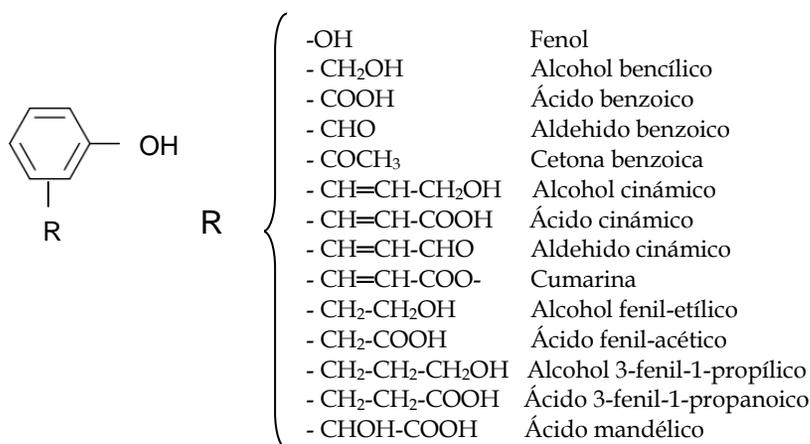


Figura 9. Estructuras químicas frecuentes de compuestos fenólicos no flavonoideos.

Compuestos fenólicos flavonoideos

Los flavonoides representan el grupo de compuestos fenólicos más importante y abundante en la naturaleza. Estos compuestos están formados por dos ciclos bencénicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono. Normalmente, estos tres átomos de carbono dan lugar a un heterociclo oxigenado. La estructura básica de los flavonoides se recoge en la Figura 10.

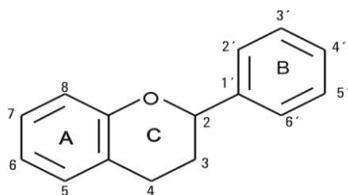


Figura 10. Estructura química general de los compuestos fenólicos flavonoideos.

Los diversos tipos de compuestos flavonoideos se diferencian entre sí por el grado de oxidación y de sustitución del heterociclo (Figura X), y a su vez dentro de cada familia se diferencian por el número y localización de los grupos hidroxilo y/o metoxilo en los anillos A y B.

Compuestos fenólicos polimerizados

En este grupo se incluyen los taninos y las ligninas. Los taninos son fenoles polimerizados que originan combinaciones estables con las proteínas y con los polisacáridos, debido al gran número de grupos hidroxilo que poseen. Bate-Smith y Swain (1962) definen los taninos como compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3000 y que, además de dar las reacciones normales de los polifenoles, tienen propiedades especiales como la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas.

La lignina es uno de los componentes fundamentales de la madera. El término lignina está reservado a los constituyentes no glucídicos de la estructura aromática y procede de la condensación del alcohol coniferílico. Sarkanen y Ludwig (1971) describen a las ligninas como productos naturales que resultan de la polimerización deshidrogenada llevada a cabo por enzimas, o químicamente de precursores primarios que poseen una estructura alcohol p-hidroxicinamilo. Estos polímeros están siempre asociados con polisacáridos y, en algunos casos, con ciertos ácidos fenólicos.

Composición fenólica de legumbres

Aunque no son muy abundantes las referencias sobre el estudio individualizado de compuestos fenólicos en leguminosas, actualmente existen estudios recientes que se centran en el análisis pormenorizado de

compuestos fenólicos en legumbres. En la Tabla 6 se detallan algunos de los compuestos más importantes que se han detectado así como la concentración en la que se encuentran en las distintas variedades de leguminosas analizadas.

Tabla 6. Estudios sobre la detección de compuestos fenólicos en legumbres.

Compuesto Fenólico	Legumbre	Referencia
Ácidos p-hidroxibenzoico, protocatéquico y vainillínico	Lentejas, judías y guisantes	López-Amorós y col., 2000; Dueñas y col., 2002
p-hidroxibenzaldehído y p-vainillina	Lentejas, judías y guisantes	Bartolomé y col., 1992; López-Amorós y col., 2000
p-cumárico y ferúlico	Lentejas, judías y guisantes	López-Amorós y col., 2000
Derivados p-cumaroilo, cafeoilo y feruloilo de glicósidos de flavonol	Guisantes	Ferreres y col., 1995; Dueñas y col., 2007b
Glucósidos, quercetina 3-O-glucopiranosido y kaempferol 3-O-glucopiranosido	Judías Pintas	Beninger y Hosfield, 1999a, b.
Kaempferol y derivados Glicósidos de quercetina y de kaempferol	Lentejas Judías germinadas	Latha y Daniel, 2001 López-Amorós y col., 2001
Glicósidos de flavonol y flavona	Testa de guisante	Troszynska y col., 2002
(+)-catequina	Lentejas	Bartolomé y col., 1997; López-Amorós, 2000
(+)-catequina-3-O glucósido	Lentejas	De Pascual Teresa y col., 2000; Dueñas y col., 2002
Dímeros B1, B2, B3 y trímeros y tetrámeros de procianidina	Lentejas	Bartolomé y col., 1997
Isoflavonas	Soja	Yong-Soon y col., 2000

Fuente: Amarowicz, (2008).

Importancia de los compuestos fenólicos en alimentos. Efectos beneficiosos

Los compuestos fenólicos contribuyen a las cualidades sensoriales de los alimentos, a sus propiedades farmacológicas y a su valor nutricional. Todo ello justifica el gran interés del estudio de estos compuestos en los alimentos. Estudios epidemiológicos han establecido la relación entre el alto consumo de frutas y verduras y la prevención de enfermedades, debido a la presencia de compuestos bioactivos entre los que destacan la vitamina C, vitamina A, carotenoides y polifenoles, considerados como agentes reductores que protegen a los tejidos humanos del estrés oxidativo. Gracias a los avances en las técnicas analíticas se conoce la distribución de los compuestos fenólicos en productos vegetales en términos cuantitativos y cualitativos (Dueñas y col., 2002).

Los efectos fisiológicos beneficiosos que presenta el consumo de legumbres podrían deberse a la presencia de ciertos compuestos fenólicos. Actualmente, los compuestos fenólicos tienen importancia como compuestos bioactivos, por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas, anticancerígenas, antibacterianas, etc., y por su capacidad para modificar las funciones de algunas enzimas celulares clave. De todos los compuestos fenólicos, el grupo de los flavonoides es el más extendido en la naturaleza y dentro de ellos, los flavonoles son lo que poseen mayor actividad antioxidante. En la tabla que se muestra a continuación (Tabla 7), se detallan las principales acciones farmacológicas que ejercen los compuestos fenólicos en los alimentos.

Tabla 7. Efectos beneficiosos que presentan los Compuestos Fenólicos en los alimentos.

ACCIÓN FARMACOLÓGICA: Actividad Antiinflamatoria
<ul style="list-style-type: none">✓ Compuesto fenólico: Flavonoides<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Las procianidinas combaten las causas del infarto de miocardio (Yoshida y col., 2000).
ACCIÓN FARMACOLÓGICA: Actividad Antimutagénica y Anticancerígena
<ul style="list-style-type: none">✓ Compuesto fenólico: Flavonoides<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Inhiben la aparición de tumores y protegen al organismo de compuestos mutagénicos (Elongavan y col., 1994).✓ Compuesto fenólico: Ácidos hidroxicinámicos<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Asignación de papel de defensa del organismo frente a la carcinogénesis, por la inhibición de la formación de compuestos N-nitroso (Niwa y col., 2001).• Asignación de actividad anticarcinogénica y antimutagénica a las cumarinas y flavonas (Standley y col., 2001).
ACCIÓN FARMACOLÓGICA: Actividad Antibacteriana y Antivírica
<ul style="list-style-type: none">✓ Compuesto fenólico: Ácidos hidroxicinámicos<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Ácido cafeico y sus derivados, presentan actividad antibacteriana y antivírica (Herman, 1990).✓ Compuesto fenólico: Ácidos hidroxibenzoicos<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Ácido benzoico y sus derivados, presentan actividad antimicrobiana (Rauha y col., 2000).✓ Compuesto fenólico: Taninos<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Acción antifúngica (Delaveau y Vidal-Tessier, 1986).
ACCIÓN FARMACOLÓGICA: Actividad anticolesterolemica
<ul style="list-style-type: none">✓ Compuesto fenólico: Ácidos hidroxicinámicos<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Presentan un potencial antioxidante hacia la oxidación de las LDL en ensayos <i>in vitro</i> (Natella y col., 1999).✓ Compuesto fenólico: Resveratrol<ul style="list-style-type: none">○ Estudios:<ul style="list-style-type: none">• Inhibe la oxidación de las LDL (Frankel y col., 1993).

Actividad Antioxidante

Actualmente presenta gran interés la posible influencia de los antioxidantes sobre diversas enfermedades. Recientes estudios epidemiológicos muestran una correlación entre el consumo de alimentos ricos en compuestos fenólicos y un riesgo reducido de enfermedades cardiovasculares y de ciertos tipos de cáncer, mediante la protección de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) frente a la oxidación y la reducción de la agregación plaquetaria (Shrikhande, 2000; Shahidi, 2002).

Los compuestos fenólicos se incluyen principalmente en la categoría de captadores de radicales libres, aunque también pueden ejercer su acción antioxidante a través de otros mecanismos, como quelantes de iones metálicos que catalizan reacciones de oxidación (Ursini y col., 1999). El efecto protector de estos compuestos está basado en la hipótesis de que los radicales libres, producidos durante los mecanismos de oxidación, están involucrados en los procesos de muchas enfermedades, por lo que los antioxidantes pueden actuar previniendo o retrasando su formación.

Entre los compuestos fenólicos que mayor poder antioxidante presentan se encuentran los flavonoides (quercetina, proantocianidinas) y algunos compuestos no flavonoides (ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos). Es bien sabido que los alimentos vegetales, entre ellos los frutos, son las principales fuentes de compuestos fenólicos y por lo tanto, de actividad antioxidante. Sin embargo, recientes estudios catalogan a las legumbres como "fuentes de antioxidantes naturales" (Dueñas y col., 2002; Amarowicz y Pegg, 2008). Diversos autores han estudiado la actividad antioxidante en distintos extractos de legumbres y el contenido de antioxidantes durante varios procesos tecnológicos, mostrando actividades mayores que las esperadas en leguminosas, debido posiblemente a la fracción mayoritaria de flavonoides que presentan (López-Amorós y col., 2006; Xu y col., 2007).

2.4. Factores Antinutricionales

Las leguminosas, además de poseer numerosas características nutritivas, presentan una serie de compuestos que influyen negativamente en su valor nutritivo, y que se conocen como factores antinutritivos. Se clasifican en termolábiles, que desaparecen tras un adecuado tratamiento térmico y entre los que se encuentran los inhibidores de proteasas, las lectinas, y los glicósidos cianogénicos, y termoestables como los α -galactósidos, fitatos, taninos condensados y saponinas. Estos factores antinutritivos hacen que se limite el consumo de leguminosas y afectan a la digestibilidad y disponibilidad de nutrientes (Tabla 8).

Tabla 8. Factores antinutritivos de leguminosas y su efecto fisiológico

Componentes	Efecto Fisiológico
α -Galactósidos	Flatulencia
Inhibidores enzimáticos	
Inh. de tripsina	Inhibición de tripsina, hipertrofia pancreática, pérdida de cistina
Inh. de quimotripsina	Inhibición de quimotripsina
Inh. de α -amilasa	Inhibición de α -amilasa, dificultad utilización de carbohidratos
Lectinas	Aglutinación de eritrocitos, retraso de crecimiento, actividad mitogénica, formación de complejos con carbohidratos
Fitatos	Baja disponibilidad mineral
Taninos condensados	Reducción digestibilidad proteica, inhibición enzimas, formación de complejos con minerales y vitaminas
Glucósidos cianogénicos	Producción de cianhídrico
Saponinas	Hemolisis

Fuente: Liener (1989)

A pesar de sus efectos no nutritivos muchos de ellos representan un papel muy importante en la naturaleza. Lectinas, alcaloides y taninos contribuyen a la resistencia de la planta frente a enfermedades y al ataque de insectos y proporcionan resistencia al estrés medioambiental (Riemer y Whittaker,

1989). Los α -galactósidos sirven como fuente energética para la planta, siendo fundamentalmente utilizados por esta en situaciones de estrés tales como enfriamiento y desecación (Guimaraes y col., 2001). Williams (1970) presenta evidencia de la utilidad del ácido fítico como fuente de fósforo y cationes para la germinación de la semilla, pudiendo también actuar como fosfógeno. También se han visto efectos beneficiosos de las saponinas y de otros antinutrientes.

2.4.1. α -Galactósidos

Definición

Los α -galactósidos (GOS) son unos carbohidratos solubles derivados de la sacarosa que contienen de 1-4 unidades de galactosa unidas por enlaces α -1,6. Son muy solubles en agua y fermentados rápidamente por la microflora colónica (Mussatto, 2007). El α -galactósido más pequeño es la rafinosa, formada por una molécula de galactosa unida a la sacarosa. Sucesivas adiciones de galactosa originan estaquiosa y verbascosa (Figura 11). Unidades mayores como la ajugosa, sólo se encuentra en trazas en semillas, por lo que no ejercerá un papel importante como factor antinutritivo.

Las estructuras de los principales α -galactósidos son:

Rafinosa: α -D-Gal (1-6)- α -D-Glu(1-2)- β -D-Fru

Estaquiosa: α -D-Gal (1-6)- α -D-Gal (1-6)- α -D-Glu(1-2)- β -D-Fru

Verbascosa: α -D-Gal (1-6)- α -D-Gal (1-6)- α -D-Gal (1-6)- α -D-Glu(1-2)- β -D-Fru

(Gal=galactosa; Glu=glucosa; Fru=Fructosa)

Algunas legumbres contienen series homólogas de galactósidos solubles, que están basados en unidades de ciclitol. Aunque estos galactosil ciclitolos no son oligosacáridos "en sentido estricto", se encuentran en altas concentraciones en las legumbres y juegan un papel clave en la cadena de síntesis de GOS. Entre los galactosil-ciclitolos encontramos al ciceritol, que se trata de un trisacárido (O- α -D-galactopiranosil-(1-6)-O- α -D-galactopiranosil-(1-2)-1-D-4-O-metil-qui-ro-inositol).

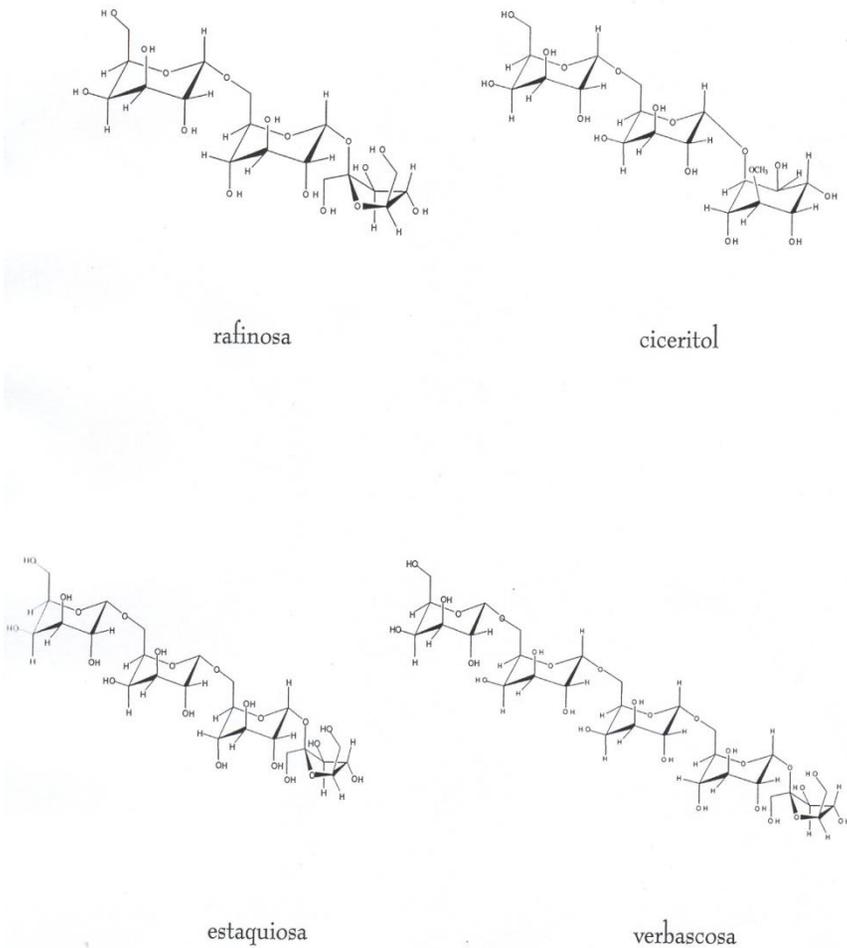


Figura 11. Estructura de los α -galactósidos

Rutas de biosíntesis de los α -galactósidos

En los últimos años se han realizado considerables progresos en la bioquímica y en la biología molecular de los GOS (Peterbauer y Richter, 2001). Se han aislado y caracterizado numerosas enzimas implicadas en las rutas de síntesis hasta ahora desconocidas. La biosíntesis de la rafinosa (Figura 12), el primer componente de la serie, se origina por la adición de un grupo galactosilo que se une a la sacarosa. Estaquiosa, verbascosa y ajugosa,

son GOS más complejos y son sintetizados por galactinol, dependiente de galactosiltransferasas o por transferencia de unidades de galactosilo entre dos moléculas de GOS. El galactinol, un derivado galactosilo del mio-inositol, actúa como un donador de galactosa.

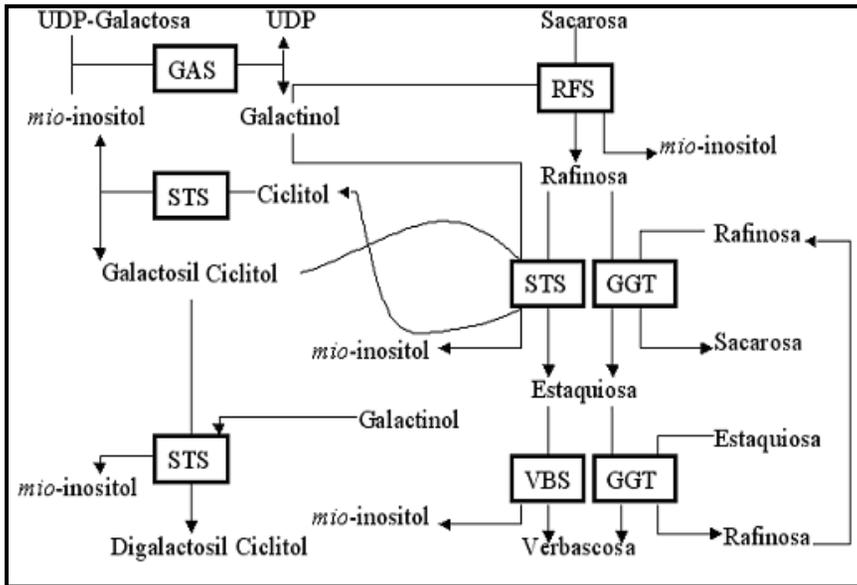


Figura 12. Representación sistemática de las rutas de biosíntesis de GOS y galactosil-ciclitos.

GAS: galactinol sintasa; RFS: rafinosa sintasa; STS: estaquirosa sintasa; VBS: verbascosa sintasa; GGT: galactano:galactano galactosiltransferasa. Todas las reacciones son reversibles. Fuente: Peterbauer y Richter (2001).

La rafinosa es el principal GOS que se encuentra en semillas de monocotiledóneas, mientras que la estaquirosa y verbascosa, se acumulan principalmente en semillas de dicotiledóneas como las legumbres. El cicleritol está presente en garbanzos y lentejas, pero no se detecta en guisantes ni en alubias. Algunos autores relacionan la presencia de cicleritol con una disminución de la flatulencia potencial, debido a la menor velocidad de hidrólisis que experimenta este galactosil ciclitol por la galactosidasa (Quemener y Brillouet, 1983).

Entre las funciones más importantes de los α -galactósidos destacan: la participación en el almacenamiento y en el transporte de carbohidratos; protección de la planta frente a las lectinas y otras toxinas, y su actuación como inhibidor de la germinación en situaciones de escasez de agua; también juegan un papel importante en la adaptación al frío.

α -Galactósidos: Presencia en los alimentos e implicaciones fisiológicas

El contenido de galactósidos en leguminosas varía mucho entre especies, incluso entre variedades dentro de una misma especie, pero sus márgenes oscilan entre 0,4 y 10 g/ 100g en leguminosas de consumo humano (Tabla 2.8.). Asimismo, se ha estudiado que los factores que influyen en la concentración de GOS que presentan las legumbres son: factores genéticos (repercutiendo en los niveles de sacarosa y verbascosa) y factores ambientales (afectan principalmente a rafinosa y estaquiosa) (Frías y col., 1996). Entre estos últimos destacan las consecuencias que el clima puede tener sobre la mayor/menor presencia de GOS en las legumbres, determinando que los cultivos de invierno contienen niveles más elevados que los de primavera (Quemener y Brillouet, 1983)

Tabla 9. Contenido de α -galactósidos en leguminosas (g/100g m.s.)

	Judías		Guisante	Lenteja	Garbanzo
	(<i>P. vulgaris</i>)	(<i>V. sinensis</i>)			
Rafinosa	0,2 - 2,5	0,4 - 1,2	0,4 - 2,3	0,1 - 0,8	0 - 0,3
Ciceritol	-	-	-	0,2-2,1	1,2 - 3,1
Estaquiosa	0,2 - 3,9	2,0 - 3,6	0,3 - 4,2	1,1-4,0	0,4 - 2,0
Verbascosa	0,1 - 1,8	0,6 - 3,1	0 - 4,3	0 - 6,4	Tr - 0,4
Total α -galactósidos	0,4 - 8,0	3,0 - 7,9	2,3 - 9,6	1,8 - 7,5	2,0 - 7,6

Fuente: D'Mello y col. (1991).

Los α -galactósidos son considerados factores antinutritivos porque las especies monogástricas, como el hombre, no poseen la enzima α -1,6-galactosidasa, responsable de hidrolizar los enlaces α -1,6, que se requiere

para la correcta digestión de los GOS. Estos compuestos pasan por el intestino delgado intactos y sufren una fermentación anaerobia en el colon, lo que determina la aparición de gases (H_2 , CO_2 , y CH_4) responsables de la flatulencia y en ocasiones de dolores abdominales y diarreas osmóticas. Así, los galactósidos son considerados como los factores antinutritivos más importantes en la génesis del *flatus*, aunque otros compuestos pueden contribuir también a la producción de gas (Olson, 1987) como la fracción soluble de la fibra, almidón resistente, metilmercaptanos, fructanos y fructooligosacáridos.

Por lo tanto, si se quiere incrementar el consumo de leguminosas es necesario conseguir una reducción de los niveles de estos compuestos, y son múltiples las experiencias desarrolladas con este fin. Existen diversos métodos que promueven la eliminación o reducción de estos componentes antinutritivos, los cuales se basan en la aplicación de tratamientos térmicos, en la actuación sobre su ruta metabólica (inactivando enzimas responsables de su síntesis o adicionando α -galactosidasa) y en el desarrollo de procesos de germinación o fermentación.

El remojo es el tratamiento más común para la eliminación parcial de los α -galactósidos, siendo éste más eficiente cuando se añade bicarbonato sódico al agua de remojo, debido a la mayor permeabilidad obtenida por la parcial solubilización de las paredes de las células (Vijayakumari y col., 1997; Ibrahim y col., 2002). Los tratamientos térmicos afectan al contenido de α -galactósidos en el medio, debido a la lixiviación de los mismos y/o a cambios en la fracción de carbohidratos, pudiéndose incluir su hidrólisis (Vijayakumari y col., 1997; Wang y col., 2003).

Además de los métodos anteriormente descritos, en la bibliografía existen múltiples estudios cuya finalidad es la reducción de los α -galactósidos, como la biotecnología y la ingeniería genética (De Lumen, 1992) o la selección genética (Leakey, 1994).

Sin embargo, recientemente se les ha atribuido algunas de las propiedades beneficiosas de la fibra alimentaria tales como normalizar el tránsito intestinal, aumentar el número de colonias de lactobacilos y bifidobacterias

disminuyendo las de enterobacterias presentes en la microflora intestinal, y reducir los compuestos N-nitroso que son potencialmente carcinogénicos (Van Loo y col., 1999). Por ello, algunos autores estudian la posibilidad de aprovechar las distintas funciones positivas que los GOS ejercen en el organismo, procediendo a su aislamiento y purificación, pudiendo ser utilizados como agentes prebióticos (Rycroft y col., 2001).

2.4.2. Ácido Fítico

El ácido fítico (IP₆) se trata del éster hexafosfato de mioinositol y representa la forma principal de reserva de fósforo utilizado durante la germinación. Se encuentra presente en muchos alimentos de origen vegetal, principalmente cereales y legumbres (0,4 - 3%), en forma de sales de cationes mono- y divalentes (K⁺, Ca⁺², Mg⁺²), siendo al mismo tiempo una importante reserva de fósforo durante la germinación y el crecimiento de las plantas y una forma de almacén de cationes en muchas semillas (Gorospe y col., 1992).

El ácido fítico es considerado como un factor no nutritivo ya que los seis grupos fosfato de la molécula de IP₆ lo hacen comportarse como un fuerte agente quelante reduciendo la biodisponibilidad principalmente de cationes di- y trivalentes, tales como Zn⁺², Cu⁺/Cu⁺², Fe⁺²/Fe⁺³, Mn⁺², Mg⁺², Ca⁺² (Figura 13). Bajo las condiciones de pH del tracto gastrointestinal, se forman los complejos insolubles metal-fítico, convirtiendo al metal en no disponible para la absorción intestinal, reduciéndose su biodisponibilidad en animales y en humanos (Belitz y Grosh, 1997). Además, el ácido fítico disminuye la digestibilidad de las proteínas (Reddy col., 1988), almidón (Yoon y col., 1983), y lípidos (Nyman y Björck, 1989).

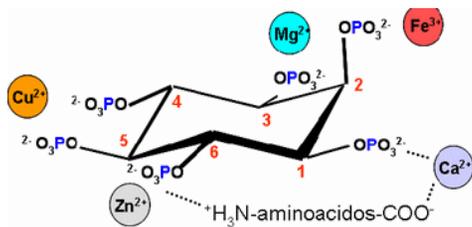


Figura 13. Estructura Ácido Fítico.

Durante el procesado del alimento y en la digestión, el ácido fítico o inositol hexafosfato (IP₆) puede ser parcialmente defosforilado, dando lugar a los productos de degradación: penta- (IP₅), tetra- (IP₄) y tri-fosfatos (IP₃), a través de la acción de la fitasa endógena, que se encuentra en la mayoría de las semillas de las plantas superiores (Zhou y Erdman, 1995).

En los últimos años se han desarrollado numerosas experiencias con el fin de reducir el contenido de fítico en los alimentos destinados al consumo humano y animal, y así aumentar la digestión de las proteínas y la biodisponibilidad de los minerales. Numerosas técnicas de procesado, tales como remojo, cocinado germinación o fermentación, reducen el contenido en fítico como consecuencia de su disolución en el medio o el aumento de actividad fitasa (Fernández y col., 1997; Vidal-Valverde y col., 1998; Urbano y col., 2003).

Sin embargo, el ácido fítico no sólo tiene efectos negativos en la salud humana; múltiples estudios resaltan su carácter antioxidante, debido a sus propiedades quelantes del hierro, comportándose como un potente inhibidor de la formación de radicales hidroxilo de hierro, al bloquear el lugar de unión (Hawkins y col., 1993). Existen recientes estudios que le atribuyen ciertas propiedades en la prevención de cáncer de colon, al reducir el riesgo de peroxidación lipídica (Rickard y Thompson, 1997) y la formación de radicales hidroxilo que se complejen con el hierro en el colon. Además de disminuir los niveles séricos de colesterol y triglicéridos, también se le atribuyen funciones como antimicótico, previniendo la formación de aflatoxinas en la soja al hacer el cinc no biodisponible para el hongo (Rickard y Thompson, 1997).

2.4.3. Taninos

Se pueden definir como compuestos fenólicos solubles en agua con pesos moleculares entre 500-20.000 Daltons (D), con gran complejidad en su estructura y que, junto con las propiedades generales de los compuestos fenólicos, presentan propiedades específicas como es la facilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas.

Debido a estas propiedades específicas, la presencia de taninos está asociada con un bajo valor nutritivo pues al formar complejos solubles e insolubles con proteínas, reducen su biodisponibilidad (Liener, 1994). Algunas enzimas digestivas como la tripsina, α -amilasa y lipasa son inhibidas por estos compuestos, lo que provoca una disminución de la digestibilidad de carbohidratos, proteínas y lípidos (Griffiths, 1986; Quesada y col., 1995).

La formación de complejos tanino-proteína no sólo depende del tamaño, conformación y carga de las moléculas de proteína sino también del tamaño, grado de hidroxilación y flexibilidad de los taninos involucrados en la unión (Hagerman y Butler, 1981). Si el tanino es una molécula muy voluminosa no será capaz de aproximarse a los lugares activos de la proteína debido a impedimentos estéricos.

Además del efecto negativo, los taninos presentan un papel potencial como antioxidantes, asociado a las propiedades generales de los compuestos fenólicos como captadores de radicales libres. Esta actividad se produce también por la unión de los taninos a proteínas endógenas, por ejemplo a las del tracto gastrointestinal, ejerciendo un efecto beneficioso contra el daño oxidativo que pueden ocasionar los radicales libres que se generan durante la digestión (Carbonaro y col., 1996).

2.4.4. Inhibidores Enzimáticos

Los inhibidores enzimáticos son aquéllos que interfieren en la actividad de los sistemas enzimáticos del aparato digestivo inhibiendo específica o inespecíficamente enzimas necesarias para la asimilación de nutrientes.

Inhibidores de proteasas

La presencia de inhibidores de proteasas en las leguminosas, así como en cereales, supone un problema para la digestión proteica en mamíferos.

Los inhibidores de proteasas representan el 0,2-2% en peso de las proteínas solubles de leguminosas. Los más conocidos son los inhibidores de tripsina y quimotripsina, de manera que se han encontrado en todas las leguminosas cantidades de inhibidores de tripsina y, en un gran número de ellas, también

de quimotripsina. Participan durante los procesos de germinación de la planta regulando la actividad catabólica de determinadas enzimas endógenas, además de bloquear los sistemas de acción de las enzimas microbianas acoplándose a ellas e impidiendo su ataque (Liener, 1989).

Los inhibidores de serín proteasas son los más estudiados, siendo de dos tipos: los inhibidores de Kunitz, que presentan una estructura molecular con dos puentes disulfuro por molécula, y de Bowman-Birk, cuya estructura está entrecruzada mediante siete puentes disulfuro formando una molécula compacta simétrica (Figura 14). Estos inhibidores de serín proteasas son capaces de inhibir sólo a tripsina, o a tripsina y a quimotripsina, o incluso a tres serín proteasas distintas (Ferrason y col., 1995).

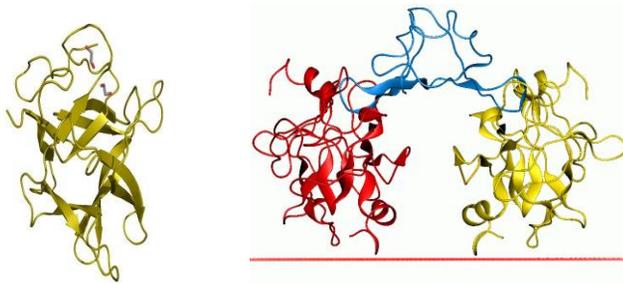


Figura 14. Estructuras tridimensionales propuestas para los inhibidores de Kunitz y Bowman-Birk, respectivamente.

La presencia de tales inhibidores en leguminosas supone un gran interés para los nutricionistas. Se han conseguido aislar inhibidores de tripsina en harinas de leguminosas y se ha observado que un aumento del páncreas, una sobreestimulación de la secreción de enzimas pancreáticas, así como la inhibición del crecimiento y una pérdida de la energía metabolizable, son algunos de los efectos producidos como consecuencia de su presencia en tales alimentos. Parece ser que mediante un mecanismo de retroalimentación (feed-back), estos inhibidores estimulan al páncreas a sintetizar mayores cantidades de quimotripsina y tripsina. Sin embargo, recientes estudios asocian la presencia de inhibidores de proteasa con la capacidad de prevención o inhibición de ciertas patologías tumorales con ciertas

actividades anti-inflamatorias (Ware y col., 1999) o con la reducción de la gravedad de enfermedades degenerativas y autoinmunes (Rostami y Kennedy, 2004).

Debido al carácter termolábil de estos inhibidores, el calentamiento de las harinas de leguminosas puede mejorar su valor nutritivo y producir un suplemento proteico de mayor calidad, aunque se ha encontrado actividad inhibitoria de tripsina en harinas después de haber sido calentadas a 100 °C durante una hora (Gupta, 1987; Liener, 1989). La desnaturalización por el calor puede deberse a la ruptura de los puentes disulfuro existentes en los inhibidores de tripsina.

Inhibidores de α -amilasa

Además de los inhibidores de proteasas las legumbres contienen inhibidores de amilasas de naturaleza proteica. Se tratan de fracciones proteicas que actúan inhibiendo la acción enzimática de la α -amilasa de la saliva humana, la pancreática porcina, la procedente de insectos, pero no actúan frente a las α -amilasa bacterianas del humus y de las plantas. En la literatura existen investigaciones donde se describen el papel que ejerce el inhibidor de α -amilasa en la planta como agente resistente a plagas y enfermedades. Ambekar y col. (1996) y Giri y Kachole (1998), presentan evidencias de una correlación positiva entre el contenido de inhibidor de α -amilasa en guisantes y cierta resistencia a plagas de insectos. No obstante, existen estudios donde se afirma que la presencia del inhibidor de α -amilasa en la dieta podría provocar síntomas parecidos a enfermedades celiacas e hipertrofias pancreáticas (Pick y Wöber, 1995).

Los inhibidores de amilasas encontrados en leguminosas, concretamente en judía común (*Phaseolus vulgaris*) se encuentran en un intervalo molecular entre 40 y 50 KD, son de carácter ácido con pH entre 4 - 5 y con un contenido en carbohidratos entre 7 - 14 % (Ho y col., 1995). Las técnicas electroforéticas (PAGE y SDS-PAGE) han revelado que todos los inhibidores de α -amilasas de leguminosas contienen dos o más subunidades. Pick y Wöber (1995)

comprobaron que los inhibidores encontrados en judía común y las α -amilasas existentes en la saliva humana reaccionan en una proporción de 1:1. Sin embargo, a diferencia de los inhibidores de tripsina, apenas existen referencias bibliográficas que indiquen los cambios que se producen en los niveles de inhibidor de α -amilasa durante el procesado térmico (Piergiovanni, 1992). Grant y col. (1995) revelaron reducciones significativas del porcentaje de actividad del inhibidor tras procesos de cocción y deshidratación en harinas de leguminosas.

2.4.5. Lectinas

Aproximadamente unas 600 especies de leguminosas contienen lectinas, que representan del 2 al 10% de la proteína total de la legumbre seca. Se trata de un grupo heterogéneo de proteínas vegetales capaces de unirse reversiblemente a restos de azúcares de glicoproteínas situados en la superficie celular, originando "in vitro" la aglutinación de los glóbulos rojos y una severa depresión del crecimiento, como consecuencia de su unión a receptores específicos de las células de la mucosa intestinal y, por tanto, reduciendo la capacidad de absorción de nutrientes en el intestino delgado (Pusztai y col., 2004). Así, se ha detectado que la lectina del guisante se une específicamente a un residuo de D-manosa y en cambio las de la soja, interaccionan específicamente con N-acetil-D-galactosamina (Calderón de la Barca y col., 1994). En este sentido, las lectinas o fitohemagglutininas se unen a la superficie de todo el tracto digestivo (estómago, intestino delgado y grueso). Las consecuencias dependen del órgano de que se trate; así, se puede producir una hiperplasia del intestino delgado, una hipertrofia del colon..., observándose en todos los casos un aumento de la actividad metabólica (Thompson, 1993).

Por otra parte, las lectinas juegan un papel muy importante en las plantas contra insectos depredadores (D'Mello y col., 1991). Se ha observado que las lectinas presentes en la judía común (*Phaseolus vulgaris* L.) eran responsables de la resistencia de estas semillas al ataque de coleópteros, ya que contenían

tres tipos de proteínas insecticidas: inhibidor de α -amilasa, lectina y arcelina (proteína de reserva resistente a la digestión).

Las lectinas en el hombre se comportan de igual forma, como factor antinutritivo, alergénico, u otros factores subclínicos, principalmente cuando se consumen en grandes cantidades. Sin embargo, investigaciones recientes postulan cierta implicación de las lectinas en la limitación del crecimiento tumoral (Pryme y col., 1998; Pusztai y col., 2004).

Teniendo en cuenta el carácter termolábil de estos factores antinutricionales, temperaturas iguales o superiores a 70 °C podrían disminuir parcial o totalmente su acción. Coffey y col. (1992) encontraron que la fitohemaglutinina purificada de la judía tipo riñon es más sensible al tratamiento térmico que la de judía común. Las lectinas son estables frente a procesos de congelación manteniendo su total actividad durante aproximadamente siete meses almacenada a - 23 °C, en cambio son sensibles a tratamientos enzimáticos como la proteólisis. Recientemente Butz y col., (1996) propusieron las altas presiones como un método alternativo al tratamiento térmico. Se trata de una técnica de esterilización y pasteurización como consecuencia de la mayor demanda de los consumidores de productos más sanos, sabrosos y mínimamente procesados; es decir, un método de cocinado y esterilización sin calor.

2.4.6. Otros componentes de interés nutricional

Glucósidos cianogénicos

No son sustancias tóxicas como tales, sino que su toxicidad surge por la consiguiente liberación al medio de ácido cianhídrico, producto tóxico que además puede dar lugar a tiocianato, agente bociógeno que interfiere en la captación del yodo por la glándula tiroides (Montgomery, 1980). Aparecen en trazas en la naturaleza, a excepción de las familias *Rosaceae*, *Leguminosae* y *Gramineae*, donde aparecen en elevadas concentraciones (Davis, 1991). Los glicósidos cianogénicos pueden encontrarse en hojas, tallos, flores, raíces y semillas, y en mayor concentración en los tejidos jóvenes que en los adultos

(Fennema, 1993). La concentración de estos compuestos en lentejas y garbanzos es menor de 1,5 mg HCN/ 100 g, por lo que no causan ningún problema, al estar por debajo de los límites mínimos. Sin embargo en el caso de las judías de Lima (*Phaseolus lunatus*) pueden llegar a producir de 210 a 312 mg HCN/ 100 g, permaneciendo todavía presentes incluso después del tratamiento de cocción (Montgomery, 1980).

Saponinas

Son glicósidos de triterpenoides, concretamente de esteroides. Su efecto principal es la producción de espumas no deseadas durante el procesado de los alimentos, ya que la molécula consiste en un carbohidrato hidrofílico unido a una parte esteroide hidrofóbica (Belitz y Grosh, 1997). Aparecen principalmente en leguminosas destinadas a forraje (Fenwick y col., 1991). Entre los efectos biológicos que se les atribuye podría citarse la capacidad de causar la lisis de eritrocitos (Kalil y El-Adawy, 1994) y permeabilizar la mucosa intestinal. Por otra parte también se ha observado que las saponinas presentan propiedades beneficiosas como la reducción de los niveles de colesterol y una cierta actividad anticancerígena (Thompson, 1993).

3. ALIMENTOS FUNCIONALES, TENDENCIAS Y FUTURO

Los alimentos funcionales no constituyen una entidad única, bien definida y correctamente caracterizada. De hecho, una amplia variedad de productos alimenticios se incluyen (o se incluirán en el futuro) en la categoría de alimentos funcionales. Estos abarcan diversos componentes, nutrientes y no nutrientes, que afectan a toda una gama de funciones corporales relacionadas con el estado de bienestar y salud, la reducción del riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Al estar muchos de estos productos alimenticios funcionales comercializados, resulta más fácil argumentar la justificación científica de estos alimentos como un concepto basado en la función. De esta forma, el concepto puede adquirir carácter universal y no estar sujeto a la influencia de las características o las tradiciones culturales que determinan la presencia de

los productos en sus respectivos mercados. El concepto de alimento funcional, que surgió recientemente en Japón, ha sido posteriormente ampliado en los Estados Unidos y en Europa. Los alimentos funcionales podrían definirse como: “aquel alimento capaz de producir un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, de mejorar el estado de salud y de bienestar o de reducir el riesgo de padecer una enfermedad” (Roberfroid, 2000).

3.1. La tecnología en el desarrollo de los alimentos funcionales

La ciencia de la nutrición ha dado grandes pasos en el último siglo en cuanto a la identificación de nutrientes e ingredientes con efectos específicos sobre la salud. Estas sustancias pueden obtenerse de materias primas e incorporarse a alimentos destinados a grupos específicos de consumidores. Por otra parte, si un componente natural produce un efecto negativo sobre la salud, puede eliminarse. La tecnología alimentaria puede aprovecharse para modificar la composición de los alimentos en dos aspectos principales: el enriquecimiento y la extracción (Ashwel, 2001).

Enriquecimiento: Enriquecer un producto significa agregarle un nutriente para que éste alcance un nivel más elevado que el que normalmente tiene en ese alimento sin procesar. En la Tabla 10 se muestra una representación de los nutrientes más destacados en la industria alimentaria, utilizados para enriquecer productos alimenticios.

Tabla 10. Principales nutrientes usados para enriquecer alimentos

Nutriente	Acción	Efecto Negativo
Vitaminas E y C	<ul style="list-style-type: none"> • Reducen los riesgos de enfermedades cardiovasculares y cáncer 	
Antioxidantes	<ul style="list-style-type: none"> • Previenen la oxidación • Actividad anticolesterolémica 	<ul style="list-style-type: none"> • Susceptibles de oxidación
Ácido Fólico	<ul style="list-style-type: none"> • Reducen los defectos del tubo neural (recién nacido) • Reducción de los niveles plasmáticos de homocisteína 	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdidas de folato al someter el alimento al calor
Calcio	<ul style="list-style-type: none"> • Mejoran la ingesta de calcio • Aumento de densidad ósea 	<ul style="list-style-type: none"> • Cantidades elevadas producen "sabor a tiza"
GOS	<ul style="list-style-type: none"> • Estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias del colon 	<ul style="list-style-type: none"> • Papel antinutritivo: responsables de la flatulencia

Fuente: Howlet (2008).

Extracción y separación: Las tecnologías de extracción y separación se utilizan para la obtención de materias primas (compuestos funcionales) que ejercen un efecto positivo en la salud y el bienestar del hombre. Estos compuestos funcionales pueden así adicionarse a los productos alimenticios (adición) para el desarrollo de alimentos funcionales. Asimismo, estas tecnologías también pueden emplearse para eliminar un componente del alimento que interfiera con su valor nutricional óptimo (eliminación), y así conseguir un alimento más saludable. Algunos ejemplos de adición y eliminación de nutrientes alimentarios se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11. Ejemplos de adiciones y eliminaciones alimentarias

Nutriente	Acción
Ejemplos de Adiciones	
Betaglucano	Ejercen un efecto beneficioso en la salud cardiovascular e intestinal
Isoflavonas	Reducen la osteoporosis, promueven la salud cardiovascular y alivian los síntomas de la menopausia
Glucosinolatos	Capacidad activadora de la función hepática y capacidad desintoxicante
Esteroles	Reducen colesterol sanguíneo
GOS	Estimulan selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias del colon
Ejemplos de Eliminaciones	
Colesterol de yemas de huevo	Huevos más saludables
Fitatos en cereales	Se inhibe la acción del quelato como quelante de oligoelementos

Fuente: Howlet (2008).

3.2. Tecnologías emergentes y Perspectivas Futuras

El constante progreso de las tecnologías aplicadas impulsa continuamente la evolución de los alimentos, su producción y sus propiedades, incluidas sus propiedades nutricionales y saludables. Los conocimientos científicos relativos a la identificación y caracterización de los efectos funcionales de los alimentos han experimentado adelantos considerables. Un estado bueno de salud se relaciona estrechamente con un estilo de vida saludable, en especial, con hábitos alimentarios apropiados que tengan en cuenta las pautas nutricionales, las recomendaciones alimentarias establecidas y la moderna ciencia de la nutrición (Bellisle y col., 1998). En efecto, la optimización de las funciones corporales y la promoción de la salud y el bienestar por medio de una alimentación variada, así como la reducción del riesgo de sufrir ciertos trastornos relacionados con la alimentación mediante una elección adecuada de los alimentos, son las principales prioridades de muchos sectores

interesados: los científicos, los consumidores, los gobiernos y los fabricantes de alimentos (Weststrate y col., 2002).

4. PRODUCTOS DESHIDRATADOS: Beneficios y Aplicaciones

Actualmente, existe un gran interés de la industria alimentaria por el diseño, desarrollo y comercialización de alimentos especiales destinados a distintos sectores de población, tales como niños, jóvenes, adultos, mujeres embarazadas, deportistas, tercera edad (Mota y Empis, 2000). En este sentido, alimentos de textura modificada son diseñados especialmente para pacientes con disfagia y diversos trastornos gastrointestinales, los cuales son comunes en ancianos, afectando a la percepción, a la capacidad de elección y a la habilidad para comer (Rothenborg, y col., 2007). Por lo tanto, los alimentos de textura modificada presentarán un aspecto, textura y características similares a los alimentos tradicionales, y permitirían que se conozca con precisión la composición en nutrientes y el valor calórico de los platos que se preparen en cada momento.

La técnica de deshidratación se podría definir como aquella operación que tiene como objetivo la eliminación de la mayor cantidad de agua presente en los alimentos, aumentando su tiempo de conservación. La eliminación del agua proporciona una excelente protección frente a las principales causas de alteración de los alimentos, los microorganismos, los cuales no pueden desarrollarse en un medio sin agua, evitando así la descomposición del alimento. Además, en estas condiciones tampoco es posible la actividad enzimática, y la mayor parte de las reacciones químicas se paralizan o se hacen más lentas, dotando al alimento de una mayor vida útil (Vega-Mercado y col., 2001). Una mejora en el transporte y almacenamiento del producto es otra ventaja que se consigue deshidratando el alimento, como consecuencia de su menor peso y volumen (el peso se puede llegar a disminuir ocho veces su peso original (Aguilera y col., 2003).

Los alimentos deshidratados son considerados alimentos de textura modificada, los cuales pueden ser rehidratados con la apariencia y textura de

alimentos enlatados o convencionales (Nickels, 2006; Vega-Mercado, y col., 2001). Por lo tanto, la deshidratación en alimentos es una técnica controlada capaz de conservar la estructura primaria o crear una nueva con fines funcionales.

4.1. Efectos de la deshidratación en alimentos

En la actualidad, un alimento o ingrediente deshidratado puede competir en precio, sabor, olor y apariencia con el producto fresco o con los procesados mediante otras técnicas. Se puede reconstituir fácilmente, retiene los valores nutritivos y presenta una óptima estabilidad en el almacenamiento. Sin embargo, las propiedades y la estructura del alimento deshidratado dependerán en gran medida del tipo de deshidratación empleada, de los efectos de las variables del proceso (temperatura, tiempo, velocidad) y de la estructura original del material fresco. Además, los productos deshidratados presentan unas propiedades excelentes de rehidratación que conducen después de la cocción a texturas deseadas, repercutiendo en la preservación de la integridad celular y en una hidratación uniforme a nivel microestructural (Aguilera y col., 2003).

Sin embargo, algunos estudios muestran cómo la deshidratación en alimentos frescos produce un deterioro en la calidad de los productos deshidratados: endurecimiento, reducción de tamaño y alteración del color y la textura. Con frecuencia estos cambios ocurren sólo en determinados productos, afectando en mayor o menor grado, dependiendo de la composición del mismo y de la severidad del método de deshidratación utilizado. El empleo de altas temperaturas y tiempos de deshidratación prolongados, puede causar efectos negativos en los parámetros de calidad, tales como en el color y la textura (Migliori y col., 2005).

El oscurecimiento que presentan los alimentos deshidratados en algunas ocasiones puede deberse a oxidaciones enzimáticas, por lo que se recomienda inactivar las enzimas mediante tratamientos previos de pasterización, cocción o escaldado. El oscurecimiento también puede deberse a reacciones no enzimáticas, que se aceleran cuando los alimentos se someten a altas

temperaturas y el alimento posee elevada concentración de grupos reactivos (Belitz y Grosh, 2006).

Otra consecuencia de la deshidratación de alimentos es la dificultad en la rehidratación. Las causas son de origen físico y químico, teniendo en cuenta por una parte la contracción y la distorsión de las células y los capilares y por otra, la desnaturalización de las proteínas ocasionada por el calor y la concentración de sales. En estas condiciones, las proteínas de las paredes celulares no podrán absorber tan fácil de nuevo el agua, perdiendo así la turgencia y alterando la textura que caracteriza a un determinado alimento.

La pérdida parcial de componentes volátiles y de sabor es otro efecto negativo de la deshidratación. Por ello, algunos métodos atrapan y condensan los vapores producidos al desecar y los devuelven al producto deshidratado. Otras técnicas agregan esencias y saborizantes que derivan de otras fuentes, o bien agregan gomas u otros compuestos que reducen las pérdidas de sabor y aroma. Sin embargo, los poros existentes en las matrices de alimentos deshidratados son una interesante estructura funcional para el desarrollo de productos. Éstos pueden ofrecer texturas deseables durante la masticación, actuar como portadores de nutrientes y comportarse como enlace para los aromas y su liberación controlada (Aguilera y col., 2003). Asimismo, en ocasiones la técnica de deshidratación se combina con la de microondas logrando así productos con una mejor calidad sensorial (Gowen y col., 2006).

4.2. Importancia de la estructura de los alimentos deshidratados

La deshidratación es una operación donde el principal objetivo es eliminar el agua de un material para obtener un producto con una mayor vida útil. Sin embargo, la deshidratación no debería verse sólo como una operación unitaria, sino también como un potente método para producir estructuras alimentarias únicas a partir de material fresco (Aguilera y col., 2003). Por ello, el estudio de las transformaciones de las estructuras de los componentes alimentarios durante el procesado, sería un importante avance para la comprensión y aplicación de alimentos deshidratados. Así, la información

microestructural podría ser utilizada para la comprensión de los mecanismos de transporte durante la deshidratación y evaluar la funcionabilidad de los productos acabados.

Existen nuevos métodos disponibles para investigar acerca de la microestructura de los alimentos, tales como la microscopía electrónica de barrido (SEM, scanning electron microscopy), resonancia magnética de imagen o la microscopía de fuerza atómica. Algunas de estas técnicas ofrecen la posibilidad de mostrar una representación simultánea de análisis químicos, térmicos o mecánicos, en condiciones simuladas o en condiciones actuales (Aguilera y Stanley, 1999; Bijnen y col., 2002).

Uno de los métodos anteriormente citados y aplicados en la realización de esta Tesis, es la microscopía electrónica de barrido, que usa electrones en lugar de luz para formar una imagen, permitiendo la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos, facilitando así información sobre la morfología superficial del material analizado. Tiene una gran profundidad de campo, lo cual permite que se enfoque una gran parte de la muestra, a la vez que reproduce imágenes de alta resolución. A partir de él se producen distintos tipos de señal que se generan desde la muestra y se utilizan para examinar muchas de sus características. Con él se pueden realizar estudios de los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de diversos materiales, además del procesamiento y análisis de las imágenes obtenidas. El estudio de la estructura del almidón mediante SEM, ayuda a comprender la disposición y organización de los gránulos de almidón junto a las proteínas en la matriz de harinas de leguminosas, así como proporcionar información complementaria de las determinaciones físico-químicas (Sreerama y col., 2008).

4.3. Aplicaciones

El empleo de la técnica de deshidratación en la industria alimentaria se aplica a una amplia variedad de productos en distintos sectores, debido principalmente a las ventajas que ofrece como método de conservación. Aunque también, recientemente, las industrias farmacéuticas y

biotecnológicas han mostrado interés en la conservación de biomoléculas activas dentro de matrices deshidratadas para lograr una mejor estabilidad y transporte en el cuerpo humano. En general, la deshidratación es un proceso donde se producen importantes cambios a nivel estructural, físico y sensorial, y que presenta la ventaja de poder ser aplicado a una gran multitud de alimentos, obteniendo productos con una amplia variedad de aplicaciones.

- ✓ La leche y los derivados lácteos son tal vez los ingredientes más mencionados a la hora de referirse a los productos deshidratados (Lee y Morr, 1994). Así mencionar el queso en polvo comúnmente usado en este tipo de alimentos, que suele contener suero, sólidos de la leche, aceite vegetal hidrogenado o maltodextrina. En la industria del helado, los ingredientes lácteos en polvo tienen una contribución muy destacada.
- ✓ Por otro lado, el tomate en polvo, deshidratado mediante atomización, y las hojuelas de tomate, presentan unas características muy apropiadas para ser incorporadas como ingrediente siempre disponible con sabor suave de tomate, aportando un color agradable en mezclas sazonadoras o como parte de formulaciones para salsas, sopas y bebidas (Heredia y col., 2007). La deshidratación es una tecnología que ya es tradicional aplicarla a los conocidos tomates secados al sol ("sun-drying"), que se caracterizan por su bajo contenido en humedad (entre 12 y 24%). Una vez hidratados muestran unas atractivas propiedades sensoriales (Souza y col., 2007).
- ✓ Entre los ingredientes en polvo más usados también está el ajo (Sharma y Prasad, 2001). Cada diente es procesado y secado obteniendo un producto con un contenido de humedad del 7%. El proceso de deshidratación se efectúa en banda transportadora continua que lleva el producto por varias etapas con temperaturas variadas; la circulación de aire y los tiempos de proceso, dependen de la variedad del ajo y las posteriores aplicaciones en la industria alimentaria. Después de la deshidratación, el ajo laminado es molido y separado por tamaño de partícula, que van desde ajo en polvo, granulado, en hojuelas, o ajo laminado. El producto aglomerado en polvo también se encuentra

disponible en el mercado, al cual se le adiciona calcio en forma de estearato para que el polvo fluya fácilmente.

- ✓ Asimismo, existen otras hortalizas como cebolla, apio y perejil donde el proceso de deshidratación se aplica principalmente para obtener el alimento deshidratado o bien se emplean como aditivos saborizantes que se añaden a platos procesados, sopas o en la elaboración de productos enlatados (Tsamo y col., 2005; Rapusas y Driscoll, 1995).
- ✓ Las legumbres, debido a su gran interés nutritivo como fuente de proteína, carbohidratos, minerales y vitaminas, presentan un perfil muy atractivo para ser deshidratadas y obtener así harinas de leguminosas que pueden ser añadidas como ingredientes funcionales en la elaboración de sopas, purés o productos de repostería, o bien ser destinadas a determinados sectores de la población que padecen ciertas patologías (trastornos gastrointestinales, ancianos, enfermos de Alzheimer, celíacos...).

 - Por otro lado, cabe destacar el papel que representa la harina de garbanzos en la India u otros países de Oriente, donde se está estableciendo como un producto habitual en la alimentación, no sólo por su riqueza nutricional, sino también porque constituye un sustituto de la harina de trigo para los enfermos celíacos, dado que la harina de garbanzos no contiene gluten. A partir de esta harina se elaboran platos muy conocidos en la India como las pakoras (especie de buñuelos fritos realizados con una mezcla de pollo y otras verduras), o bien se usan para enharinar y dar consistencia a empanadillas. En Argentina, es muy famosa la fainá, que contiene harina de garbanzo aderezado con aceite de oliva, pimienta y sal.
 - La adición de harinas de leguminosas junto con una base de trigo en la elaboración de pan, tartas o tortillas de trigo, son otras de las aplicaciones novedosas en las que las legumbres están teniendo un papel importante. Cabe mencionar la elaboración de pan a partir de harinas de habas, soja o guisante,

consiguiendo una mejora en las características organolépticas, color, sabor y olor, conservándose fresco durante más tiempo (Moros, 2006). Asimismo, la harina de garbanzo resulta imprescindible para obtener las tortitas de camarones, en cuya realización se llega a emplear hasta un 50% del total de harina empleada junto al trigo.

- Recientemente, se están desarrollando en nuestro país productos como refrescos elaborados con alubias, pasteles con harina de garbanzo o aperitivos elaborados a partir de harinas de lentejas y garbanzos o judías, con el fin de incorporar las legumbres a la dieta moderna, haciéndolas atractivas al consumidor con estos nuevos productos (Han y col., 2009). Resultan productos alimenticios muy saludables por presentar un alto contenido en fibra, carbohidratos de asimilación lenta y proteínas, que en el mercado serían una alternativa muy buena a todos los productos hechos con harina de maíz. Con productos como estos los científicos tratan de reincorporar las legumbres en la dieta diaria, de manera tal que se puedan eliminar los problemas de obesidad en los países ricos y los de desnutrición en el mundo en vías de desarrollo.

A continuación se muestran algunos de los estudios más relevantes realizados con harinas de leguminosas y sus aplicaciones en la industria alimentaria.

Utilización de harinas de garbanzo en la elaboración de tartas

✓ **Objetivo:** Mejorar el valor nutritivo de productos de repostería empleando harinas de leguminosas, debido al aporte de aminoácidos esenciales y al rico contenido en fibra que presentan los garbanzos.

✓ **Resultados:** Tartas con un menor volumen, una textura más firme, gomosa y menos cohesiva, con el consiguiente enriquecimiento proteico, si lo comparamos con tartas elaboradas a partir de harina de trigo.

❖ Gómez y col., 2008

Efectos de la adición de harinas de judías sobre tortillas de trigo

✓ **Objetivo:** Evaluar los cambios producidos sobre las propiedades físicas y nutricionales de tortillas de trigo al incluir harinas de judías en su elaboración.

✓ **Resultados:** Tortillas con aceptables parámetros de textura y color; con una mejora en su perfil nutricional a causa de un aumento de proteínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante respecto a las tortillas elaboradas exclusivamente con trigo.

❖ Antón y col., 2008

Uso alternativo de las harinas de garbanzo en la elaboración de pan

✓ **Objetivo:** Obtener un producto enriquecido con harina de garbanzo y evaluar los cambios producidos en la composición química del pan.

✓ **Resultados:** La adición de harina de garbanzo provoca un aumento de la fibra alimentaria, de la proteína, y del contenido de almidón resistente, dando lugar a un producto con un bajo índice glucémico, idóneo para la mejora del control de glucosa en personas diabéticas.

❖ Utrilla-Coello y col., 2007

Posibles métodos de reducción de la presencia de acrilamida en alimentos

✓ **Objetivo:** Reducir el contenido de acrilamida en patatas fritas, dada su actividad mutagénica y carcinogénica en seres vivos.

✓ **Resultados:** Al rebozar en harinas de garbanzo las patatas antes de ser procesadas, se consiguen notables reducciones en el contenido de acrilamida debido a la formación de complejos almidón-proteína, que disminuyen la disponibilidad de los azúcares implicados en la reacción de Maillard y por lo tanto implicados en la síntesis de acrilamida.

❖ Vattem y Shetty, 2003

Fortificación de pasta a partir de harinas de guisante y judía

✓ **Objetivo:** Estudiar cómo afecta la adición de harinas de guisante y judía en altas proporciones y la temperatura del proceso en la elaboración de pasta, desde un punto de vista nutricional y sensorial.

✓ **Resultados:** La pasta resultante elaborada con harina de leguminosas (35% del contenido de la harina total) que fue sometida a altas temperaturas de deshidratación, obtuvo una mayor dureza, cohesión y elasticidad respecto a la pasta sometida a bajas temperaturas de deshidratación.

❖ Petitot y col., 2009

Evaluación nutricional y sensorial de aperitivos preparados con harina de soja

✓ **Objetivo:** Determinar la composición nutricional y realizar un análisis sensorial a snacks dulces y salados elaborados con distinto contenido de harina de soja.

✓ **Resultados:** Snacks con mayor contenido proteico, grasa y de cenizas y con menor presencia de carbohidratos. La calidad sensorial de los snacks elaborados con una proporción del 20-40% de harina de soja respecto a la harina total, no se vio afectada.

❖ Senthil y col., 2002

Adición de harinas de garbanzo a espaguetis elaborados a partir de amaranto

✓ **Objetivo:** Conseguir una mejora en la calidad nutricional y en las características tecnológicas de la pasta, adicionando harinas de leguminosas en la elaboración de espaguetis.

✓ **Resultados:** Se obtienen espaguetis con una mayor resistencia a la cocción y menos pegajosos debido al elevado contenido de proteínas que presentan los garbanzos, además de una menor susceptibilidad a la rotura. Los valores de adhesividad y firmeza son similares a los obtenidos en la pasta elaborada sólo con amaranto.

❖ Chillo y col., 2008

Elaboración de galletas enriquecidas con harinas de alholva

✓ **Objetivo:** Evaluar las características físicas, químicas y sensoriales de galletas enriquecidas con harinas de alholva crudas y sometidas a un proceso de remojo o germinación.

✓ **Resultados:** La incorporación del 10% de harinas de alholva es la proporción idónea en la formulación de galletas para lograr una mayor calidad. Las galletas que contenían un 10% de alholvas germinadas fueron las que mostraron mejores características físicas, sensoriales y nutricionales.

❖ Hooda y Jood, 2005

Desarrollo de crackers sin gluten a partir de harinas de leguminosas

✓ **Objetivo:** Desarrollar productos sin gluten con una base de legumbres (garbanzo, lenteja, guisante o judía) para potenciar así su gran perfil nutricional.

✓ **Resultados:** Se obtienen crackers con buen color y aroma y una textura crujiente, siendo la harina de garbanzo la que exhibe características físicas y nutricionales más similares a los presentes en el mercado, cuyo contenido en hierro es superior al de los productos ya existentes.

❖ Han y col., 2009

Obtención de donuts elaborados a partir de harina de almorta

✓ **Objetivo:** Conseguir donuts con alto contenido de harina de almorta con el consiguiente enriquecimiento nutricional.

✓ **Resultados:** Donuts elaborados con un contenido de harina de almorta de 15g/100 presentan propiedades sensoriales muy similares a los elaborados únicamente con harina de trigo. Asimismo, se obtienen donuts con un mayor contenido de proteína, lisina y una mejor digestibilidad proteica.

❖ Rehman y col., 2007

Obtención de plásticos biodegradables a partir de harinas y aislados proteicos de garbanzo

✓ **Objetivo:** Desarrollar un material plástico biodegradable, no tóxico realizado a partir de harinas o aislados proteicos de garbanzo como fuente alternativa a harinas de soja.

✓ **Resultados:** Los plásticos realizados a partir de aislados proteicos de garbanzos muestran las mejores propiedades mecánicas y la menor absorción de agua si las comparamos con las harinas de garbanzo y los aislados y harinas de soja. Este hecho sugiere un nuevo avance en la producción de materiales plásticos.

❖ Salmoral y col., 2000

5. PAPEL DE LAS PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES EN HARINAS DE LEGUMINOSAS

Las propiedades tecno-funcionales han adquirido una gran importancia debido al incremento en el uso de harinas de leguminosas en el desarrollo de formulaciones alimentarias. No cabe duda que las características tecno-funcionales proporcionan una serie de datos relevantes en la formulación de alimentos, que pueden ser utilizados como guía en el desarrollo de productos, especialmente en harinas mixtas de trigo-leguminosas, donde las proteínas se utilizan como principales ingredientes funcionales. No obstante, estas características vienen determinadas no sólo por el contenido de proteínas en las harinas, sino también por el contenido de carbohidratos complejos y otros componentes de la fibra alimentaria como son las pectinas y hemicelulosas. Actualmente, los alimentos funcionales están adquiriendo suma importancia y han atraído la atención de no sólo de fabricantes y comercializadores de alimentos, sino también de los consumidores (Reilly, 1994). En este sentido, los investigadores han enfatizado la expansión de la utilización de las leguminosas en forma de harinas como ingredientes funcionales.

5.1. Definición

Las propiedades tecno-funcionales son propiedades físico-químicas que proporcionan información sobre cómo un ingrediente (componente) en particular (proteína, carbohidrato) podría comportarse en una matriz alimentaria. Dichas propiedades se establecen por la composición y estructura molecular de los componentes individuales y de las interacciones que se establecen entre ellos (Kinsella, 1976).

Recientemente existe una gran diversidad de alimentos en el mercado, lo que conlleva a ampliar el marco de elección por parte de los consumidores, provocando el crecimiento selectivo de industrias en función de los ingredientes que puedan proporcionar unas excelentes propiedades funcionales y nutricionales al alimento que se comercializa.

5.2. Propiedades tecno-funcionales en alimentos sin procesar

Entre las propiedades tecno-funcionales destacan aquéllas que están relacionadas con el agua, ya que desarrollan un papel importante en los principales cambios que tienen lugar durante el procesado de alimentos. Por lo tanto, se puede decir que las propiedades de hidratación, entre las que destacan la capacidad de absorción de agua y la capacidad de retención de agua, influyen directamente en las características que conforman la matriz del alimento (McWatters, 1983).

La **capacidad de absorción de agua** se define como la cantidad de agua que permanece unida al material hidratado tras la aplicación de una fuerza externa. Esta propiedad es de suma importancia en el caso de las legumbres y está directamente relacionada con las características de cocción, por lo que resulta imprescindible para determinar el comportamiento del alimento durante el procesado térmico, ya que ayuda a la separación de las células en los cotiledones de las leguminosas. Esta característica también se aplica para mantener la textura suave de productos elaborados con harinas de mezclas cereal-leguminosa. Por otra parte, la funcionabilidad de las proteínas puede tener un papel relevante a la hora de mantener la humedad de los alimentos, así como en productos de panadería. La propiedad de absorción de agua es deseable en alimentos como natillas y masa de repostería, por su capacidad de embeber agua sin disolver las proteínas (Seená y Sridhar, 2005). Además, esta propiedad influye en la textura de los productos cárnicos confirmando consistencia, viscosidad y mayores propiedades de adhesión, por lo que las harinas de leguminosas podrían ser utilizadas también en la formulación de este tipo de productos, como salchichas o análogos de carne (Granito y col., 2007).

También cabe destacar **la capacidad de retención de agua**, que se define como la habilidad del material húmedo para retener agua cuando el material ha sido sometido a fuerzas centrífugas externas o de compresión; por tanto, es la suma del agua enlazada, agua hidrodinámica y agua atrapada físicamente, siendo esta última la que mayor contribución aporta a esta capacidad. En esta propiedad las proteínas son las principales responsables de los incrementos o reducciones que experimenta la capacidad retención de agua en alimentos (Hulton y Campbell, 1981). Por lo tanto, dicha capacidad va a influir en la textura de productos cárnicos, como

salchichas o análogos de carne, donde las proteínas son capaces de retener agua sin disolverse, debido a la insuficiente cantidad de agua, proporcionando propiedades de consistencia, adhesión y viscosidad. Asimismo, el empleo de harinas de soja como ingrediente en la elaboración de galletas, va a conferir una mejora en el contenido de humedad y una suavidad de la textura debido a las características de retención de agua que proporciona esta legumbre.

Respecto a la fracción lipídica de las leguminosas, se sabe que la proporción en la que se encuentra es baja si la comparamos con otros alimentos, sin embargo la **capacidad de retención de aceite** va a ser determinante en la elaboración y almacenamiento de alimentos fritos, debido al papel que desempeña en el desarrollo del poder oxidativo y en el de enranciamiento. Básicamente el mecanismo de esta propiedad se debe a la retención física del aceite por atracción capilar (Kinsella, 1976). La capacidad de retención de aceite es deseable para la elaboración de carne picada, para la conservación de aromas, para conseguir una mejora de la palatabilidad y para incrementar la vida media de productos de repostería, donuts, panqueques, bollería, así como productos cárnicos, y sopas (Chel-Guerrero y col., 2002). Además, el carácter hidrofóbico de las proteínas también juega un papel importante en la absorción de grasa (Voutsinas y Nakai, 1983). Dzudy y Hardy (1996) sugieren que las harinas preparadas con judías podrían ser utilizadas como ingredientes en la preparación de salchichas. Asimismo, Wolf (1970) argumenta que estas propiedades permiten a los panaderos añadir más agua a la masa, mejorando así la manipulación y una mayor vida útil del pan.

Como fracción mayoritaria en las leguminosas cabe destacar el almidón, el cual es el principal responsable de la contribución energética, de las propiedades organolépticas y de los cambios que experimentan determinadas propiedades tecno-funcionales como son la densidad aparente, la capacidad de hinchamiento, y de gelificación (en esta última es responsable junto a las proteínas). Entre las principales funciones del almidón en las propiedades tecno-funcionales destacan la de agente aglutinante, agente humectante, agente gelificante, agente texturizante y agente reductor de grasa, con numerosas aplicaciones tanto en la industria alimentaria como fuera de ella (Mauro, 1996).

La fracción amilácea, específicamente la amilopectina, está íntimamente relacionada con la **capacidad de hinchamiento**, la cual se define como la relación entre el peso húmero del gel sedimentado y su peso en seco. Los patrones de viscosidad del almidón son establecidos a partir de la capacidad de hinchamiento de los gránulos de almidón y de la resistencia de los gránulos hinchados a ser disueltos por calor o fragmentados debido a fuerzas de cizalla. Generalmente el almidón de las legumbres es más viscoso que otros pertenecientes a cereales, lo que indica que el almidón de las harinas de leguminosas presenta una mayor resistencia al hinchamiento y a la ruptura. La capacidad de hinchamiento también podría ser atribuida a las pequeñas cantidades de carbohidratos, principalmente de almidón y a las uniones del agua con las proteínas solubles. Esta propiedad es muy importante en la elaboración de fideos chinos (“noodles”) transparentes a partir de almidones de leguminosas, los cuales están empezando a ser muy populares en Oriente (Singh y col., 1989).

La **capacidad de gelificación** representa la mínima concentración a la que una harina alcanza la máxima gelificación. Se trata de una propiedad esencial en la elaboración y aceptación de diversos alimentos, incluyendo vegetales y otros productos (Prinyawiwatkul y col., 1997). La capacidad de gelificación de las legumbres parece ser función de la naturaleza y tipo de almidón y proteína que constituyen el alimento, e incluso de los posibles complejos proteína-polisacárido que pueden llegar a formar (Tolstoguzov, 1986). Asimismo, la concentración mínima requerida para la formación de un gel en harinas está influenciada por una competición física por el agua entre la gelificación de la proteína y la gelatinización del almidón. Turgeon y Beaulieu (2001) han demostrado la mejora en la textura del gel de proteína con la adición de carbohidratos debido a la disminución de la afinidad termodinámica de las proteínas por la solución acuosa, lo que aumenta la interacción entre proteínas. La capacidad que tienen las harinas de leguminosas para formar geles es muy apropiada en la elaboración de alimentos viscosos tales como salsas procedentes de carnes asadas, sopas, productos de repostería; sin embargo esta propiedad no es muy deseada en la elaboración de crepes, donde la capacidad espumante resultaría esencial (Padmashree y col., 1987). Además la

gelificación específica de la proteína es muy importante en la preparación de pudín, mermeladas y salsas que requieran cuerpo y una textura tipo gel.

En lo que se refiere a la **capacidad espumante**, dicha propiedad hace referencia a la capacidad que tienen las proteínas de formar capas estables rodeando las gotitas de gas en una fase líquida (Rangel y col., 2003). Las proteínas con una buena capacidad de formar espumas deberían ser solubles en la fase acuosa, difundir y concentrarse en la fase aire-agua, extenderse parcialmente para formar capas cohesivas alrededor de las burbujas de gas y poseer una viscosidad y fuerza mecánica suficiente para prevenir la ruptura y coalescencia de las gotas (Kinsella, 1979). Sin embargo, Diwakar y col. (1996) afirman que esta propiedad depende exclusivamente de la configuración de las moléculas de proteína. Las proteínas flexibles facilitan una buena capacidad de formar espumas, mientras que las moléculas globulares proporcionan una baja capacidad espumante porque éstas no son capaces de reducir la tensión superficial de la interfase aire-agua. En este sentido varios autores han sugerido una relación directa entre la capacidad espumante y la solubilidad del nitrógeno de las harinas de leguminosas (Narahana y Narasinga-Rao, 1982). La capacidad de formar espumas en las harinas de legumbres es una característica deseable para la producción de algunos alimentos tradicionales, tales como los productos de repostería (Singh, 2001).

En relación a la **capacidad emulsionante**, esta propiedad mide la capacidad de las proteínas para formar una dispersión de una fase oleosa en un medio acuoso (Dagorn-Scaviner y col., 1987). Las características de emulsión de las proteínas contribuyen en gran medida a la funcionabilidad de los alimentos.

Son varios los factores que afectan a la capacidad emulsionante, tales como pH, tamaño de gota, carga neta, tensión interfacial, viscosidad y la conformación de la proteína. Se ha observado que los elevados valores de capacidad emulsionante que poseen algunas proteínas de leguminosas pueden ser debidas a la naturaleza globular que presentan (Sathe y col., 1982) o bien estar directamente relacionadas con la mayor o menor solubilidad que muestran en el alimento (Chau y col., 1998). Respecto a esta última afirmación se aprecia que la influencia de la solubilidad sobre la capacidad emulsionante es más de carácter cualitativo que cuantitativo (Prinyawiwatkul y col., 1997). Asimismo, existe en la literatura artículos donde se

atribuye no sólo a las proteínas la capacidad de formar emulsiones, sino que argumentan que otros componentes de naturaleza no proteica como los carbohidratos también contribuyen sustancialmente a las propiedades de emulsión, como es el caso de las fracciones de fibra alimentaria que se encuentran presentes en el alimento (Betancur-Ancona y col., 2004). Por lo tanto, las proteínas procedentes de leguminosas que posean una buena capacidad de formar emulsiones podrán ser utilizadas en la fabricación alimentos tales como mahonesa, salchichas y aderezos. Aunque el papel que desarrolla el contenido proteico ha sido mencionado en alguna de las propiedades tecno-funcionales de hidratación anteriormente descritas, no cabe duda que las propiedades de gelificación, así como las propiedades espumantes y emulsionantes son las que se van a ver más afectadas por la composición, naturaleza y solubilidad de las proteínas de leguminosas (Sathe y Salunkhe, 1981). El papel que ejercen las proteínas en las propiedades tecno-funcionales de las leguminosas está resumido en la Tabla 12.

Tabla 12. Propiedades tecno-funcionales de las proteínas y sus aplicaciones en diversos alimentos.

Propiedad	Aplicación
Emulsificación	Salsa para ensaladas, carnes
Hidratación	Masas, carnes
Viscosidad	Bebidas, masas
Gelificación	Salchichas, postres
Espumante	Tartas, ingrediente de cobertura ("topping")
Cohesión	Masas
Propiedades de textura	Productos texturizados, masas
Solubilidad	Bebidas

Fuente: Sathe (2002).

Finalmente, la **densidad aparente** es la propiedad tecno-funcional que relaciona la masa con el volumen ocupado por la harina, incluyendo el volumen de las

partículas y los espacios disponibles entre las mismas. La densidad aparente de las harinas de leguminosas juega un papel importante en la formulación de alimentos infantiles (Malleshi y col., 1989) y cabe esperar que las harinas funcionales con menores valores de densidad aparente sean más adecuadas para este tipo de formulaciones. La principal repercusión que esta propiedad presenta en las harinas leguminosas se refleja en el transporte de las mismas, puesto que las harinas que exhiban una mayor densidad aparente mostrarán un menor volumen, lo que supondrá una mejora en su uso y manejo (Dzudie y Hardy, 1996).

5.3. Efectos del procesamiento de harinas de leguminosas en las propiedades tecno-funcionales

Existen distintos procesamientos que alteran en mayor o menor medida las propiedades tecno-funcionales provocando cambios físicos, químicos y estructurales en la composición de las harinas de leguminosas.

Una de las fracciones que se ve afectada en mayor medida por el proceso térmico es la fracción amilácea, produciéndose la gelatinización del almidón, lo que conlleva a una pérdida irreversible de la estructura cristalina de los gránulos, un incremento en el tamaño de los mismos (probablemente no uniforme), un incremento de la viscosidad, etc... (Ring y col., 1988). Estos cambios se van a ver reflejados en las propiedades de absorción de agua, densidad aparente, hinchamiento y gelificación (ésta última también se ve afectada por los cambios producidos en las proteínas). Los cambios que se producen en las moléculas de las proteínas, debidos a los procesamientos térmicos dan lugar a modificaciones en ciertas propiedades funcionales, como son la capacidad de retención de agua y aceite, espumante, de emulsión y gelificación.

La **absorción de agua** durante la cocción depende principalmente de los gránulos de almidón, los cuales están unidos por puentes de hidrógeno en forma de paquetes cristalinos, llamados micelas (Dzudie y Hardy, 1996). Cuando las suspensiones de los gránulos de almidón son calentados, estas estructuras se hidratan y provocarán un aumento de la absorción de agua por parte de las harinas de leguminosas.

Respecto a la **densidad aparente** se trata de una propiedad sensible a tratamientos tecnológicos como es el tratamiento térmico, fermentación o germinación, debido probablemente a las modificaciones estructurales que experimentan los gránulos de almidón durante el procesado. Por lo tanto, cabe esperar que la cocción de las harinas tenga una mayor densidad de estructura como consecuencia de la parcial o completa gelatinización de los gránulos de almidón (Njintang y col., 2006).

La **capacidad de hinchamiento** también es otra propiedad tecno-funcional que se va a ver afectada por el tratamiento térmico, experimentando grandes incrementos debido a la gelatinización del almidón, lo que provoca un mayor aumento de peso del residuo cuando es expuesto a una fase acuosa. Además se ha observado que la capacidad de hinchamiento aumenta linealmente con el calor de gelatinización y desciende linealmente con el contenido de amilosa (Sasaki y Matsuki, 1998).

El procesado de las harinas va a tener cierta repercusión en las **capacidades de retención de aceite y agua**. Estos incrementos son como consecuencia de los cambios en la concentración y en la conformación estructural de las proteínas. Mientras que algunos autores relacionan el aumento en la capacidad de retención de agua con el mayor o menor contenido de proteínas en las harinas procesadas (Hutton y Campbell, 1981), otros no encuentran dicha correlación y justifican el incremento observado por cambios conformacionales en las proteínas (Prinyawiwatkul y col., 1997). Los efectos del tratamiento térmico sobre la capacidad de retención de aceite en harinas son menores que los acontecidos en la capacidad de retención de agua.

En lo que refiere a la **capacidad espumante**, se producen significantes reducciones en dicha capacidad como consecuencia de la aplicación de procesos térmicos (Diwakar y col., 1996). Se ha observado que la solubilidad de las proteínas se ve reducida por el tratamiento térmico debido al proceso de desnaturalización, lo que provoca cierta disminución en la capacidad espumante. Singh (2001) mostraba que los cambios en las concentraciones de albúmina y globulina pueden estar relacionados con el descenso en la capacidad espumante como consecuencia del tratamiento térmico.

Por otra parte, la **capacidad emulsionante** es una propiedad muy sensible al tratamiento térmico, provocando marcadas reducciones en las harinas de leguminosas procesadas (Singh, 2001). La aplicación de calor afecta a la estructura de las proteínas, las cuales exhiben numerosas cadenas polares, lo que aporta carácter hidrofílico y por lo tanto, afectando a su solubilidad y a las propiedades emulsionantes. Respecto al proceso de deshidratación podría causar una disociación de algunos componentes sensibles al calor (fosfolípidos, glicolípidos) y que podrían afectar a la capacidad emulsionante (Singh, 2001).

Respecto a la **capacidad de gelificación** tras un tratamiento térmico, experimenta un ligero incremento como consecuencia de los cambios en la estructura de las proteínas y el almidón, logrando un efecto sinérgico (Prinyawiwatkul y col., 1997). Sin embargo otros autores como Singh (2001) argumentan que la habilidad de las harinas de leguminosas tratadas térmicamente para formar pastas viscosas y geles es debida principalmente al poder de gelificación de las proteínas mas que a la gelatinización del almidón. Por lo tanto las harinas de leguminosas tratadas térmicamente tendrán una mayor habilidad de gelificar que las harinas crudas.

5.4. Futuras áreas de investigación

Como se desprende de la bibliografía, las legumbres exhiben propiedades tecno-funcionales muy diversas según su especie, variedad, condiciones del cultivo y las condiciones medioambientales en las que se cultivan. Actualmente se están realizando esfuerzos orientados a la evaluación de variedades genéticas de leguminosas con una mayor capacidad de adaptación a determinadas propiedades tecno-funcionales que podrían influir en la calidad global del producto final (Adebowale y Lawal, 2004).

A pesar del creciente interés de los investigadores acerca de las propiedades tecno-funcionales en los últimos años, existen todavía diversas áreas que necesitan un estudio en mayor profundidad para entender el procesado y la utilización de las harinas de leguminosas en las posibles aplicaciones en formulaciones alimentarias. Existen abundantes investigaciones acerca de las propiedades tecno-funcionales de legumbres específicas como son la soja y el cacahuete, sin embargo otras legumbres

de gran consumo como son judías, lentejas y garbanzos, todavía no han sido estudiadas exhaustivamente.

Por tanto, la identificación y mejora de las propiedades tecno-funcionales específicas de las harinas de leguminosas resulta esencial para determinar el uso potencial de dichas harinas.

Descripción de las Muestras

IV. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS

Para la realización del presente trabajo se han utilizado los siguientes tipos de leguminosas: garbanzos de las variedades *Blanco Sinaloa* y *Castellano*. También se han empleado judías blancas variedad *Cannellini* y pintas variedad *Pinta*, así como lentejas variedad *Pardina*. Las muestras de legumbres, tanto crudas como procesadas, fueron suministradas por gentileza de la empresa Agrotécnica S.L. (Badajoz) (Figura 15.).



Figura 15. Muestras de legumbres objeto de estudio.

1. PREPARACIÓN INICIAL DE LA MUESTRA

Se recibieron 5 kg de cada una de las legumbres crudas y procesadas, de los cuales se hicieron tres replicados de 250 g cada uno. Las legumbres se limpiaron cuidadosamente, retirándose cualquier material extraño. Las muestras crudas y procesadas fueron liofilizadas (liofilizador Criodos, Telsta S.A.) durante 72 horas y trituradas posteriormente por medio de un molinillo.

Liofilización: Es un proceso utilizado para retirar el agua de una sustancia mediante congelación y posterior sublimación a presión reducida del hielo formado, para dar lugar a un material quebradizo o esponjoso que posteriormente será molido con facilidad. Es una técnica bastante costosa y lenta si se compara con los métodos tradicionales de secado, pero da como resultado en productos de mayor calidad, ya que al no emplear calor se evitan en gran medida las pérdidas nutricionales y organolépticas.

Por otra parte, la liofilización como técnica analítica se aplica a todas las muestras de legumbres, crudas, remojadas, cocidas y deshidratadas, permitiendo así la obtención de un material seco, apto para ser analizado. La aplicación de la liofilización a las muestras cocidas permitirá la comparación de esta técnica de eliminación de agua con la de deshidratación por calor.

Molienda y Tamizado: La molienda es una operación unitaria donde se consigue la pulverización y la dispersión del material sólido, lo que implica una reducción del tamaño de las partículas. La reducción se lleva a cabo dividiendo o fraccionando la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado. Los métodos de reducción más empleados en las máquinas de molienda son compresión, impacto, frotamiento de cizalla y cortado. A pesar de implicar sólo una transformación física de la materia sin alterar su naturaleza, es de suma importancia en diversos procesos de transformación de alimentos.

Una vez molidas las muestras se va a proceder a realizar un tamizado donde se efectúa la separación de las partículas sólidas según su tamaño. Las muestras tamizadas serán conservadas en frigorífico para su mejor conservación, hasta su posterior análisis.

2. PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Las leguminosas antes de su consumo deben ser sometidas a una serie de tratamientos alimentarios y/o tecnológicos, con objeto de mejorar su valor nutritivo. Para ello, en la gastronomía tradicional podemos encontrar métodos sencillos de elaboración que además de hacerlas más atractivas al gusto, eliminan sustancias tóxicas y factores antinutricionales para así mejorar la palatabilidad y digestibilidad

de las mismas, con el consiguiente aumento de la disponibilidad de los nutrientes (Vidal-Valverde y col., 1994; Savage y col., 1995).

En este trabajo se han sometido las muestras a procesos de remojo, cocción y deshidratación industrial llevados a cabo en la empresa Agrotécnica, con el fin de observar cómo afectan cada una de estas etapas a la composición, biodisponibilidad y estructura de cada uno de sus componentes (Esquema 2.).

Proceso de Remojo: Es una práctica muy común y efectiva para reducir o eliminar el contenido de factores antinutritivos solubles como α -galactósidos (Vidal-Valverde y col., 1992), ácido fítico (Vidal-Valverde y col., 1998), taninos (Barampana y Simard, 1995) e inhibidores de tripsina (Márquez y Alonso, 1999). El empleo de esta técnica supone la hidratación de la semilla, con el consiguiente aumento en humedad y disminución porcentual del contenido en nutrientes debido a la difusión de los componentes solubles hacia la solución (principalmente carbohidratos y vitaminas solubles). Los componentes de la semilla que ejercen mayor influencia en la absorción de agua son las proteínas y algunos polisacáridos como almidón, hemicelulosas y pectinas. Normalmente se utiliza el remojo como un paso previo a otro tratamiento, como la cocción, con el fin de ablandar la semilla y facilitar su cocinado.

Las muestras se mantienen en remojo en agua descalcificada (relación 3:10 p/v), durante 16 a 18 horas a temperatura ambiente en el caso de los garbanzos y judías, y durante 1h 40 minutos a una temperatura de 60 °C para las lentejas; su valor en peso se incrementa aproximadamente un 85%. Los aditivos añadidos son bicarbonato sódico y cloruro sódico, los cuales disminuyen los tiempos de cocción de las leguminosas además de proporcionarles mejores propiedades sensoriales (Varriano y De-Omana, 1979). Transcurrido ese tiempo, se separa el líquido de remojo de las legumbres y se llevan a cabo los siguientes procesos:

- I. Parte de las legumbres enteras que han sufrido el proceso de remojo se introducen en el congelador para ser posteriormente liofilizadas y molidas como se indica en la preparación inicial de la muestra.
- II. El material restante se someterá a un proceso de cocción en autoclave.

Proceso de Cocción: El proceso de cocción es uno de los tratamientos más antiguos utilizados en el procesado de leguminosas. En función de la composición química de la semilla, factores genéticos, condiciones de almacenamiento, procesado previo y tratamiento térmico utilizado, varía el grado de ablandamiento conseguido y el tiempo de cocción (Kaur y Kapoor, 1990a). Análogamente al proceso de remojo, la cocción tiene un doble efecto: por un lado, favorece la eliminación de factores antinutritivos como fitohemaglutininas o lectinas, inhibidores de proteasas y de α -amilasa, compuestos volátiles cianogénicos, lectinas y complejos del ácido fítico (Kaur y Kapoor, 1990b). Por otro lado, se produce una reducción de la disponibilidad de ciertos aminoácidos debido a que tiene lugar la reacción de Maillard, y se reduce el contenido vitamínico de leguminosas, especialmente al eliminar los líquidos de cocción (Prodanov y col., 2004).

Las muestras que han sufrido un proceso de remojo previo se introducen en el autoclave, permaneciendo a una temperatura de ebullición durante 70 minutos los garbanzos, 40 minutos las lentejas, 20 minutos las judías Cannellini y 15 minutos las judías pintas, a una presión de 0,3 kg/cm². La ebullición debe ser muy suave para que la legumbre se haga igual por todas partes. Se dará por terminada cuando toda la semilla tenga la misma textura, tanto por fuera como por dentro. El líquido de cocción será separado y se llevarán a cabo los siguientes procesos:

- I. Parte de las legumbres cocidas se introducen en el congelador y se procederá como se indica en la preparación inicial de la muestra.
- II. El material restante se someterá a un proceso de deshidratación.

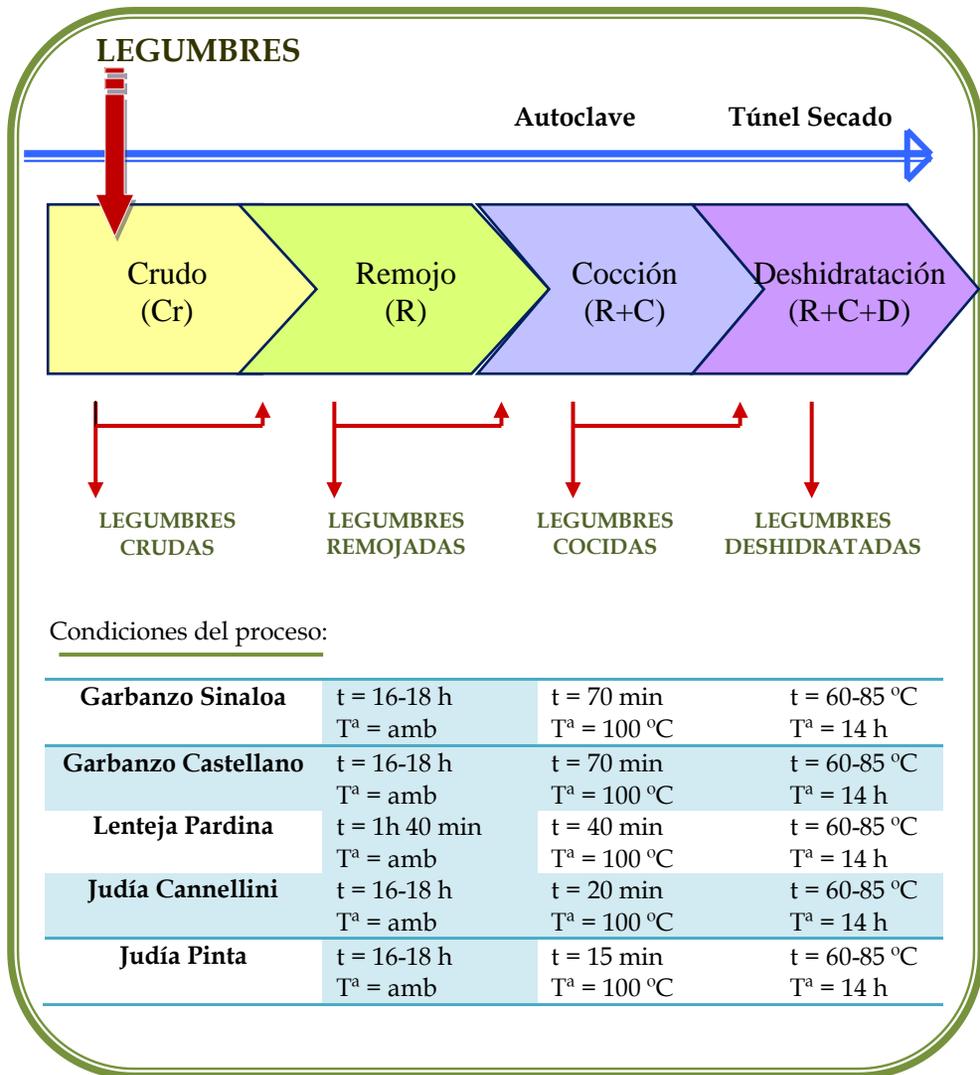
Proceso de Enfriamiento: Una vez realizado el tratamiento térmico, las legumbres son enfriadas con agua descalcificada, para aumentar su fluidez y evitar que las semillas se peguen. A continuación pasarán por una cinta transportadora, donde están dispuestas unas duchas con agua de la red.

Proceso de Deshidratación: Existen varios métodos de conservación de alimentos, entre ellos la deshidratación, que utilizan el calor para conseguir eliminar el agua que contienen algunos alimentos. Esta eliminación de agua puede ser casi completa

y se busca prevenir al máximo los cambios en el alimento, a fin de lograr, después de su reconstitución con agua, productos lo más parecidos a los alimentos originarios. Además de los fines de la conservación, la deshidratación se realiza para disminuir el peso y el volumen de los alimentos. El peso se puede llegar a reducir hasta ocho veces su peso original. Esto resulta evidentemente un ahorro en el coste del transporte y del envasado.

Después de las duchas, las muestras pasan al túnel de secado, donde son deshidratadas a una temperatura de 60-85° C. Allí permanecen durante 14 horas; la deshidratación debe hacerse muy lentamente (velocidad del aire aprox. 1,2 m/s) para evitar el efecto mariposa (apertura de la semilla). A continuación, las muestras serán enfriadas en congelador (-20 °C) hasta su preparación como se indica en la preparación inicial de la muestra.

En el Esquema 2 se representa un diagrama de flujo del procesamiento de deshidratación al que las muestras han sido sometidas.



Esquema 2. Diagrama de flujo del procesamiento de las leguminosas objeto de estudio.

Resultados y Discusión

CAPÍTULO 1: ESTUDIO INICIAL DE CARACTERIZACIÓN DE LAS HARINAS DE LEGUMINOSAS

Interés del Estudio

Las características físicas y químicas son factores importantes que afectan a la calidad del procesado de las legumbres, a su valor nutritivo, y a una mayor o menor aceptabilidad por parte del consumidor. Todos estos aspectos se ven afectados tanto por factores intrínsecos (origen, variedad...) como por factores extrínsecos (tiempo, humedad y temperatura de almacenamiento).

Por ello, resulta imprescindible desarrollar un estudio inicial del material que va a ser tratado en los siguientes capítulos, para así obtener unos resultados previos que nos ayuden a justificar los posibles cambios que se produzcan como consecuencia del tratamiento térmico de cocción y posterior deshidratación.

Métodos Analíticos

Determinación de las Características Morfológicas

En la determinación de las dimensiones de las diferentes legumbres, se seleccionan al azar 25 unidades de cada tipo de leguminosa (garbanzos, lentejas y judías) y se mide la longitud y el grosor con un calibre (Giami y Okwechime, 1993). También se realiza una evaluación del aspecto, para lo cual se toman 100 unidades al azar y se clasifican en función de su aspecto físico según su tamaño (grande, mediano o pequeño) y su color (marfil, tostado, pardo, crema).

Determinación de las Características Físicas

Para determinar el peso de las semillas se eligen al azar 100 unidades de leguminosas, se pesa el conjunto, y se expresa el resultado en gramos por 100 unidades (Giami y Okwechime, 1993). El volumen se calcula utilizando una probeta con un volumen de agua determinado (100 mL), se introducen 100 unidades y se observa el desplazamiento del agua, que corresponde al volumen de las legumbres, expresándose el resultado en mL/legumbre. La densidad se calcula con los valores de peso y de volumen, expresándose en g/mL (Phirke y col., 1982; Giami y Okwechime, 1993).

Determinación de la Composición Química

La composición química de las harinas ha sido determinada según métodos oficiales de la AOAC (1995), que engloba el análisis de humedad, cenizas, grasa y proteína. La humedad se determinó mediante diferencia de peso antes y después del secado de la muestra en estufa a 65 °C y presión atmosférica, hasta alcanzar peso constante (método 934.01, AOAC). Las cenizas se calcularon por mineralización de las muestras a una temperatura de 525 °C en un horno mufla durante 4 horas (método 942.05, AOAC). La extracción mediante Soxhlet fue empleada para la determinación de grasa (método 991.10, AOAC). La proteína se analizó usando un bloque digestor Kjeldahl (método 32.1.22, AOAC). Se calculó la proteína a partir de los datos obtenidos de nitrógeno multiplicando por el factor 6,25. Los carbohidratos totales se determinaron por diferencia.

Análisis Estadístico

En este trabajo, para el análisis estadístico de los datos obtenidos experimentalmente, se ha utilizado el análisis de varianza de un factor, empleando el Test de Duncan con un nivel de significación del 5%, con el fin de conocer las diferencia existentes entre distintas variedades de leguminosas y distintos tratamientos, expresándolo de manera que grupos con letras distintas pueden considerarse significativamente diferentes (Bender y col., 1989). Asimismo, también se utilizó el análisis de correlación para conseguir una mayor comprensión de los resultados obtenidos. Los datos obtenidos de este análisis aparecen acompañados de asteriscos, los cuales ofrecen información a cerca de la significación de ambos parámetros. De esta forma la simbología utilizada fue la siguiente:

* = significativo a nivel del 5%

** = significativo a nivel del 1%

*** = significativo a nivel del 0,1%

n.s = no significativo

El análisis estadístico se aplicará en cada una de las determinaciones desarrolladas a lo largo de todos los capítulos.

Resultados

Características Morfológicas

En la Tabla 13 (Tabla I, Anexo) se describen las características morfológicas de las legumbres objeto de estudio, indicándose el aspecto que presentan, así como el tamaño, color y dimensiones de las semillas.

El garbanzo Sinaloa es de tipo *Kabuli*, que se caracteriza por presentar color claro, y aspecto redondeado y arrugado. Son características morfológicas propias de los cultivos de regiones de América Central y América del Sur. El garbanzo Castellano, también tipo *Kabuli*, presenta color más amarillento, superficie bastante lisa y un pico curvo muy característico. Con una calidad muy aceptable, la producción se extiende por todas las zonas de producción en España, tanto en Andalucía como, sobre todo, en la Meseta Central. Las lentejas Pardina de aspecto circular presentan una cubierta de color marrón o pardo con ornamentación basada en punteadura en color negro, pudiendo tener en ocasiones un jaspeado también negro que puede ocupar toda la cubierta. En cambio, las judías Cannellini y Pinta, de color crema y marrón con manchas granate respectivamente, presentan forma arriñonada similar para ambas variedades.

En general, cuando estas muestras son tratadas térmicamente se observan colores más oscuros en la cubierta de la semilla, como consecuencia de las reacciones químicas y enzimáticas que se producen en dichos procesos.

En cuanto a las dimensiones de las semillas de garbanzos, los valores de longitud, anchura y grosor se muestran muy diferenciados dependiendo de la variedad estudiada. Mientras que el garbanzo Sinaloa presenta una longitud media de 11,9 mm, una anchura de 11,5 mm y un grosor de 9 mm, el garbanzo Castellano exhibe valores inferiores debido a su reducido tamaño. La lenteja Pardina presenta las dimensiones menores entre las legumbres estudiadas con una longitud de 5,5 mm, una anchura de 5,5 mm y un grosor de 2,5 mm. En el caso de las judías, también se aprecian dimensiones distintas según variedades; mientras que las judías Cannellini tienen una mayor longitud (15,3 mm) y anchura (8,3 mm), su grosor (3,0 mm) es menor que el que presentan las alubias Pintas (4,5 mm).

Tabla 13. Características morfológicas de las legumbres frescas.

	<p>Garbanzo Sinaloa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apariencia: garbanzo redondo irregular • Tamaño: medio • Color : tostado claro • Dimensiones (mm): 11,9 (longitud) x 11,5 (anchura) x 9,0 (grosor)
	<p>Garbanzo Castellano</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apariencia: garbanzo redondo regular • Tamaño: pequeño • Color : tostado claro • Dimensiones(mm): 6,5 (longitud) x 6,5 (anchura) x 5,5 (grosor)
	<p>Lenteja Pardina</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apariencia: lenteja de forma circular • Tamaño: medio • Color : pardo • Dimensiones(mm): 5,5 (longitud) x 5,5 (anchura) x 2,5 (grosor)
	<p>Judía Cannellini</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apariencia: judía de forma arriñonada • Tamaño: medio • Color: crema • Dimensiones (mm): 15,5 (longitud) x 8,5 (anchura) x 3,0 (grosor)
	<p>Judía Pinta</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apariencia: judía de forma arriñonada • Tamaño: medio • Color: pardo • Dimensiones(mm): 11,0 (longitud) x 7,5 (anchura) x 4,5 (grosor)

Características Físicas

En la Tabla 14 se muestran las principales características físicas de las leguminosas estudiadas. En relación al peso, se observa que el garbanzo Sinaloa es el que presenta mayor valor, 68,6 g (peso de 100 semillas), en cambio el garbanzo Castellano muestra un peso de 35,8 g acorde con su reducido tamaño. Las judías Cannellini y Pinta, exhiben pesos similares (51,2-47,3 g), mientras que la lenteja Pardina es la leguminosa que presenta el peso más pequeño 5,4 g.

En cuanto al volumen, los resultados obtenidos muestran comportamientos similares a los expuestos en relación al peso. Esto conduce a que los valores de densidad de las leguminosas objeto de estudio sean prácticamente iguales (1,2-1,3 g/mL).

Tabla 14. Características físicas de las leguminosas frescas.

Legumbre	Peso (g/100 unidades)	Volumen (mL/100unidades)	Densidad (g/mL)
Garbanzo Sinaloa	68,6 ± 0,9	50,0 ± 0,3	1,3 ± 0,2
Garbanzo Castellano	35,8 ± 0,5	27,0 ± 0,3	1,3 ± 0,2
Lenteja Pardina	5,4 ± 0,7	3,5 ± 0,3	1,2 ± 0,3
Judía Cannellini	51,24 ± 0,7	39,4 ± 0,5	1,3 ± 0,1
Judía Pinta	47,26 ± 0,8	37,5 ± 0,6	1,2 ± 0,1

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar (n = 6).

Composición Química

La composición química de las legumbres objeto de estudio, a diferencia del resto de determinaciones anteriormente desarrolladas, ha sido analizada en muestras crudas y procesadas (Tabla 15).

En lo que respecta al contenido de humedad en muestras crudas hay que destacar los valores de las judías Cannellini y Pinta (6,3 y 8,1 g/100g m.s., respectivamente) respecto al total de legumbres analizadas. Los altos valores de humedad de las judías coinciden con lo publicado por El Siddig y col. (2002), aunque resultan inferiores a los obtenidos por Chel-Guerrero y col. (2002). Marconi y col. (2000) describieron valores ≈ 10 g/100g m.s. de contenido de humedad en el caso de garbanzos y judías comunes.

Tabla 15. Composición de las leguminosas frescas y procesadas (g/100g m.s.).

Legumbre	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína	Carbohidratos Totales
Garbanzo Sinaloa					
Cr	5,7 ± 0,1 ^c	3,5 ± 0,4 ^b	4,2 ± 0,2 ^a	17,2 ± 0,1 ^a	75,1 ± 0,5 ^c
R	5,6 ± 0,1 ^c	3,7 ± 0,3 ^b	4,4 ± 0,2 ^a	17,9 ± 0,3 ^b	74,0 ± 0,3 ^b
R+C	3,9 ± 0,2 ^b	2,6 ± 0,3 ^a	4,5 ± 0,1 ^a	21,6 ± 0,3 ^c	71,3 ± 0,2 ^a
R+C+D	3,0 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,2 ^a	4,7 ± 0,4 ^b	21,0 ± 0,3 ^c	72,2 ± 0,3 ^a
Garbanzo Castellano					
Cr	4,2 ± 0,1 ^b	3,3 ± 0,4 ^b	3,1 ± 0,1 ^a	22,3 ± 0,1 ^c	71,4 ± 0,3 ^a
R	4,3 ± 0,1 ^b	4,2 ± 0,3 ^b	3,0 ± 0,1 ^a	17,4 ± 0,2 ^a	75,4 ± 0,3 ^c
R+C	4,0 ± 0,2 ^a	2,3 ± 0,3 ^a	3,8 ± 0,2 ^b	17,5 ± 0,1 ^a	78,4 ± 0,1 ^c
R+C+D	3,9 ± 0,1 ^a	2,2 ± 0,1 ^a	4,1 ± 0,2 ^c	19,3 ± 0,1 ^b	74,4 ± 0,3 ^b
Lenteja Pardina					
Cr	3,9 ± 0,1 ^a	3,4 ± 0,3 ^b	2,8 ± 0,3 ^a	19,5 ± 0,3 ^a	74,3 ± 0,4 ^b
R	3,6 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	2,9 ± 0,1 ^a	20,6 ± 0,3 ^b	75,1 ± 0,3 ^a
R+C	3,6 ± 0,3 ^a	1,6 ± 0,2 ^a	3,0 ± 0,4 ^a	25,2 ± 0,5 ^c	70,2 ± 0,5 ^a
R+C+D	3,7 ± 0,2 ^a	1,4 ± 0,4 ^a	3,1 ± 0,3 ^a	25,9 ± 0,2 ^c	69,6 ± 0,4 ^a
Judía Cannellini					
Cr	6,3 ± 0,1 ^a	5,2 ± 0,3 ^b	1,5 ± 0,2 ^a	19,8 ± 0,2 ^c	73,5 ± 0,4 ^a
R	6,1 ± 0,1 ^a	4,0 ± 0,1 ^a	1,7 ± 0,1 ^a	19,4 ± 0,2 ^c	74,9 ± 0,3 ^b
R+C	5,7 ± 0,3 ^a	2,5 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,1 ^a	16,9 ± 0,1 ^a	79,6 ± 0,7 ^c
R+C+D	5,4 ± 0,2 ^a	2,3 ± 0,4 ^a	1,9 ± 0,1 ^a	17,5 ± 0,2 ^b	78,3 ± 0,6 ^c
Judía Pinta					
Cr	8,1 ± 0,1 ^b	4,8 ± 0,3 ^b	1,8 ± 0,1 ^a	18,8 ± 0,1 ^c	74,6 ± 0,4 ^a
R	7,8 ± 0,1 ^a	4,5 ± 0,1 ^b	1,8 ± 0,2 ^a	18,7 ± 0,1 ^c	75,0 ± 0,3 ^a
R+C	7,5 ± 0,3 ^a	2,7 ± 0,2 ^a	1,9 ± 0,2 ^a	14,4 ± 0,1 ^a	81,0 ± 0,5 ^c
R+C+D	7,3 ± 0,2 ^a	2,8 ± 0,4 ^a	2,2 ± 0,1 ^a	15,1 ± 0,1 ^b	79,9 ± 0,4 ^b

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).
 Valor Medio ± Desviación Están.d.ar ($n = 6$).

Una vez que las harinas han sido procesadas, se observan ligeras reducciones del contenido de humedad en todas las legumbres excepto en el caso del garbanzo Sinaloa, que experimenta reducciones del 47% respecto al material crudo. Sin embargo, otros autores como Njintang y col. (2001) destacan valores superiores en harinas de judías deshidratadas, previamente remojadas (8,8 g/100g m.s.).

Los valores de cenizas son muy similares en todas las leguminosas frescas estudiadas, oscilando entre 3,3 - 5,2 g/100g m.s. Estos valores son muy próximos a los obtenidos por El Tinay y col. (1989) y El Siddig y col. (2002) en judías y por Iqbal y col. (2006) en garbanzos y lentejas. Sin embargo Chel-Guerrero y col. (2002) revelan valores inferiores en judías (2,8 g/ 100g m.s.). Las destacadas reducciones que experimentan las harinas durante los procesos de remojo, cocción y deshidratación, principalmente la lenteja (59% de reducción) son debidas probablemente a las pérdidas minerales por lixiviación en las aguas de remojo y cocción. Marconi y col. (2000) indican drásticas reducciones (70%) en judías y garbanzos tras un tratamiento de cocción, a diferencia de Granito y col. (2007) reflejando una menor reducción tras las etapas de cocción y deshidratación de judías (12%).

En relación al contenido de grasa, en las judías (1,5 - 1,8 g/100 g m.s.) se aprecian valores inferiores al resto de las harinas de leguminosas crudas (2,8 - 4,2 g/100 g m.s.), resultados muy similares a los descritos en judías por diversos autores (El Siddig y col., 2002; Chel-Guerrero y col., 2002; Granito y col., 2007). El garbanzo Sinaloa es el que mayores niveles de grasa presenta (4,2 g/100 g m.s.) en comparación con el garbanzo Castellano (3 g/100 g m.s.), estas diferencias podrían ser atribuidas a las diferencias varietales. Jood y col. (1998) observaron distinto comportamiento dependiendo del tipo de garbanzo estudiado, *Kabuli* y *Desi*, mostrando valores superiores de grasa los garbanzos tipo *Kabuli*. En relación a la lenteja Pardina, los niveles de grasa encontrados (2,8 g/100 g m.s.) concuerdan con lo publicado por Jood y col. (1998) e Iqbal y col. (2006). A lo largo del procesado de las muestras no se aprecian apenas diferencias significativas en cada una de las legumbres estudiadas, experimentando todas ellas un aumento del contenido de grasa, siendo más destacado en el caso del garbanzo Castellano (37% de incremento). Valores muy similares en harinas de judías deshidratadas han sido

publicados por Njintang y col. (2001), mientras que Granito y col. (2007) tampoco observan diferencias significativas del contenido de grasa durante las etapas de cocción y deshidratación, aunque se detecta una tendencia a la reducción del contenido a lo largo del proceso (6%).

Los resultados de proteína bruta en las harinas de leguminosas crudas reflejan contenidos medios en torno al 20%, valores que concuerdan con los porcentajes medios encontrados en las legumbres (Belitz y Grosh, 1997), lo que pone de manifiesto el alto contenido de proteína de estas leguminosas y su potencial como fuente alimenticia. Es evidente que el garbanzo Castellano crudo es el que presenta una mayor cantidad (22,3 g/100g m.s.), seguido de la lenteja Pardina y la judía Cannellini (19,5 y 19,8 g/100g m.s., respectivamente) y por último la judía Pinta (18,8 g/ 100 g m.s.) y el garbanzo Sinaloa (17,2 g/100 g m.s.). Estos resultados se ajustan a los indicados en la literatura (Jood y col., 1998; Chel-Guerrero y col., 2002; Iqbal y col., 2006) en los que se pone de manifiesto que el contenido de proteína de las diferentes legumbres en grano depende de muchos factores tales como variedad, aplicación de fertilizantes y localización del cultivo. No obstante, hay que indicar que, según Kochhar y col. (1988), una parte no despreciable de las sustancias nitrogenadas de los granos de leguminosas no es de naturaleza proteica. En relación al procesamiento se observa que la concentración proteica tiende a aumentar en los casos del garbanzo Sinaloa y la lenteja Pardina, posiblemente como consecuencia de un efecto de concentración (Pujolá y col., 2007). Sin embargo, el contenido proteico en el garbanzo Castellano y en las judías Cannellini y Pinta tiende a disminuir, probablemente debido a un efecto de solubilización de las proteínas en el agua de remojo y cocción (Pujolá y col., 2007). La etapa de deshidratación, en la cual no hay solubilización de sustancias, apenas causa cambios en el contenido proteico respecto a la etapa de cocción en las harinas de legumbres analizadas (Granito y col., 2007). El distinto comportamiento que presentan las legumbres objeto de estudio durante el procesado podría ser atribuido a las diferentes conformaciones estructurales, características de solubilidad proteica (contenido de albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas), punto isoeléctrico, formación de complejos (proteína-proteína, proteína-carbohidratos, proteína-mineral) o al contenido de antinutrientes termolábiles, viéndose todo ello reflejado posteriormente en los distintos valores

que también presentan las propiedades tecno-funcionales de las legumbres (gelificación, emulsión y capacidad espumante), donde las proteínas son las principales responsables de dichos valores.

En lo que se refiere al contenido de carbohidratos totales estimados por diferencia en las muestras crudas, se aprecian valores elevados (71,4 - 75,1 g/100 g m.s.). De acuerdo con la bibliografía, el principal responsable de estos niveles es la fracción de almidón y en menor proporción la fibra alimentaria, siendo los azúcares solubles los que presentan una menor contribución (Belitz y Grosh, 1997). Los resultados obtenidos se muestran superiores a los encontrados en la literatura como consecuencia del mayor contenido proteico presente en las muestras de judías comunes analizadas por otros autores (El Siddig y col., 2002; Marconi y col., 2002). Apenas se aprecian cambios en el contenido de carbohidratos en las harinas de legumbres durante el procesado (R+C+D) (4-7%), mostrando ligeros aumentos en el caso del garbanzo Castellano, la judía Cannellini y la judía Pinta y leves reducciones en el garbanzo Sinaloa y la lenteja Pardina. Dado que la determinación de los carbohidratos totales se ha realizado a partir de los resultados obtenidos del resto de componentes químicos, sus incrementos o reducciones serán consecuencia del comportamiento seguido por dichos componentes. Por lo tanto, en capítulos posteriores se realizará un análisis detallado de las distintas fracciones que forman los carbohidratos totales (almidón, fibra y carbohidratos solubles), para así obtener una mayor comprensión del comportamiento seguido en cada una de las legumbres estudiadas.

CAPITULO 2: IMPACTO DEL PROCESO DE DESHIDRATACIÓN INDUSTRIAL SOBRE LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES

Interés del Estudio

A pesar de que las leguminosas presenten un doble interés, nutricional y agrícola, debido a su elevado contenido de nutrientes y compuestos beneficiosos (carbohidratos, minerales, fibra alimentaria, proteína, vitaminas, ácidos grasos poliinsaturados y compuestos antioxidantes...) y a que suponen un beneficio ecológico gracias a su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico, también hay que mencionar la presencia de ciertos compuestos antinutritivos. Entre ellos destacan compuestos tales como, inhibidores de enzimas (tripsina, quimotripsina, α -amilasa), fitatos, taninos, lectinas, α -galactósidos, etc,... que disminuyen su valor nutritivo. Dichos compuestos afectan a la digestibilidad de las leguminosas, por lo que la aplicación de un tratamiento térmico de cocción seguido de un proceso de deshidratación podría suponer importantes disminuciones en el contenido de antinutrientes.

En este sentido, surge la necesidad de evaluar la presencia de factores antinutricionales presentes en cada una de las etapas del proceso de deshidratación industrial, con el fin de conseguir la reducción deseada en el contenido de los mismos.

Métodos Analíticos

Determinación de Inositol Fosfato

La determinación del inositol fosfato se llevó a cabo mediante el análisis pormenorizado de cada uno de los inositol fosfato (IP3-IP6), basándose en el método de Lehrfeld (1994), posteriormente modificado por Burbano y col. (1995). El análisis se realizó mediante HPLC (Beckman System Gold), con separación de pariónico, utilizando un detector de índice de refracción. Se empleó una columna PRP-1 (150 x 4,1 mm, 5 μ m) calentada a 45 °C y equilibrada con una fase móvil (515 mL de metanol: 485 mL de agua Mili-Q) durante 1 hora. Secuencialmente se añadieron 8 mL de hidróxido de tetrabutilamonio, 1mL de ácido sulfúrico 5M, 0,5 mL de ácido fórmico al 91% y por último 100 μ L del hidrolizado que contiene ácido fítico (6

mg/mL). El pH se ajustó a 4,3 utilizando ácido sulfúrico (9 M). La fase móvil se filtró a través de un filtro de Millipore (0,45 μm) y desgasificado a vacío. El flujo con el que se trabajó fue de 1,2 mL/minuto y el volumen de inyección fue de 20 μL . Se utilizó un patrón de fitato sódico (Sigma-Aldrich, Alemania).

Determinación de Inhibidores Enzimáticos

Las harinas de leguminosas se agitaron toda la noche a una temperatura de 1 °C, en un tampón PBS de fosfato sódico 0,02 M a pH 7,0 (8,0 g de NaCl, 0,20 g de ClK, 1,15 g de PO_4HNa_2 y 0,20 g de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$, enrasado a 1L con agua), utilizando una proporción harina:tampón de 1:10 (p/v). Transcurrido ese tiempo se centrifugó (20.000 rpm, 25 minutos), descartando el residuo y conservando el sobrenadante a 20 °C.

La determinación del contenido de inhibidores de proteasa se desarrolló según el método de Grant y col. (1986). A los extractos de las harinas se añadieron disoluciones de tripsina o quimotripsina, manteniéndolas en un baño a 30 °C para proceder así a su incubación. Para medir los niveles de actividad de tripsina se utilizó como sustrato clorhidrato de N_α -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) (Sigma-Aldrich, Alemania), mientras que para determinar los niveles de quimotripsina se utilizó como sustrato N-glutaril-l-fenil-alanina-p-nitroanilida (GAPNA) (Sigma-Aldrich, Alemania).

El contenido del inhibidor de α -amilasa en los extractos de harinas se determina según el método de almidón-iodo, de Piergiovanni (1992). A alícuotas de los extractos de harinas se añade una disolución de α -amilasa y se procede a su incubación durante 30 minutos en un baño de agua a 40 °C para permitir la formación del complejo inhibidor-enzima y calcular la cantidad de α -amilasa que queda libre. El contenido de inhibidor de las diferentes harinas se calcula por comparación con la cantidad de inhibidor requerido para producir una inhibición del 50% en la actividad de la enzima y se expresa como mg equivalentes de un inhibidor comercial por gramo de muestra. La realización de la curva patrón de la enzima y del inhibidor se lleva a cabo por triplicado.

Determinación de Lectinas

La actividad de aglutinación de eritrocitos a un pH 7,0 se estimó siguiendo un procedimiento de dilución en serie, usando células sanguíneas procedentes de ratas (Grant, 1991). Se realiza la cuantificación de lectinas en el mismo extracto obtenido para la determinación de inhibidores enzimáticos. Se disponen 12 tubos pequeños de ensayo para cada muestra y se añade en cada uno de ellos 150 μL de solución ClNa (0,45 g/L). Se toman 150 μL del extracto y se adicionan al primer tubo. A continuación, se agita y se toman 150 μL del primer tubo y se añaden al segundo tubo. Se mezcla y se repite sucesivamente la misma operación tubo tras tubo. Seguidamente, se adicionan 150 μL de sangre de rata (5 mL de sangre contiene 100 μL heparina (6 mg/mL)) y se agita vigorosamente. Los tubos se dejan reposar entre 2-16 horas a temperatura ambiente. Finalmente se observa al microscopio el porcentaje de aglutinación en cada uno de los tubos. La unidad de hemaglutinación (UH) se define como la cantidad por mL en la última dilución que proporcione el 50% de aglutinación de eritrocitos. La actividad de lectinas de las muestras se puede calcular por comparación, como la cantidad de material (kg) que contiene 1 UH. Los límites de exactitud experimental para esta técnica son ± 1 dilución y por tanto, las muestras de bajo y moderada actividad de hemaglutinación tendrán un significativo margen de error. En este ensayo se utilizó como control la variedad *Processor*.

En el caso de las judías, también se realizó un ensayo inmunoenzimático competitivo indirecto ELISA (Hajós y col., 1995) con modificaciones, para la cuantificación de la actividad de hemaglutinización de *Phaseolus vulgaris* (AHP). A microplacas de poliestireno de 96 pocillos se añadieron 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AHP diluido en un tampón de fosfato salino (PBS) seguido de una incubación durante toda la noche a 4 °C. A continuación se añadió una disolución del patrón AHP diluida en PBST (0,01 M PBS y Tween 20, pH 7,4) o muestras de judías de concentración desconocida de lectina, seguido de anticuerpos de inmunoglobulinas (IgG) de conejo anti-AHP (Sigma-Aldrich, Alemania, diluido 1:32.000 con PBST). Después de 1 hora de incubación se adicionó un conjugado comercial de anti-inmunoglobulinas de conejo obtenido en cabra (Sigma-Aldrich, Alemania) diluido en PBST (1: 2000 v/v). Posteriormente se realizó un lavado y se marcó con la enzima peroxidasa extravidina (Sigma-Aldrich, Alemania) diluida 1: 500 en PBST. Tras 1 hora de incubación se añadió una solución

de o-fenil-diamina- H_2O_2 (OFD) que actúa de sustrato. La reacción se visualiza por la liberación de un compuesto coloreado al actuar la enzima sobre su sustrato. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 μ l de H_2SO_4 3M. La intensidad del color que se produce en la reacción es proporcional a la concentración del antígeno de la muestra y se midió espectrofotométricamente a 492 nm.

Determinación de α -Galactósidos (GOS)

La extracción de los α -galactósidos (GOS) en las legumbres estudiadas se realizó según el método de Sánchez-Mata y col. (1998). Los GOS se extraen con etanol al 80% mediante agitación a 100 °C, en un baño de agua, durante 10 minutos. A continuación, las muestras se centrifugan a 1200 rpm y se decantan, recogiendo el sobrenadante, que es donde se encuentran los azúcares de interés. El proceso de extracción se realiza 3 veces de forma consecutiva. El extracto resultante se concentra en rotavapor a vacío a una temperatura de 30 °C hasta sequedad. El residuo seco se redissuelve en agua desionizada por medio de ultrasonidos y se filtra con papel Whatman 41, enrasándose a 10 mL con agua Milli-Q. Las muestras se pasan por un Sep-Pack C18 (Waters). A continuación, 3,5 mL del filtrado se mezclaron con 6,5 mL de acetonitrilo y se filtraron a través de un Millex HV₁₃ de 0,45 μ m (Millipore). Los carbohidratos solubles se analizaron por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) utilizando una columna Waters (3,9 x 300 mm), una bomba isocrática y un detector de índice de refracción. La fase móvil empleada fue acetonitrilo: agua (65:35, v/v), a un flujo de 1 mL/minuto a temperatura ambiente. La cuantificación de las muestras se realizó utilizando las áreas de los picos cromatográficos de los correspondientes patrones. En el caso del ciceritol, no existe un patrón comercial, por lo que se utilizó la curva de calibración del azúcar más próximo (rafinosa), realizándose una corrección según su peso molecular. Los patrones empleados se obtuvieron de Merck (Darmstadt, Alemania).

Resultados y Discusión

Inositol Fosfato

Los resultados pormenorizados de los distintos inositol fosfato (IP₃-IP₆) de las harinas de leguminosas se muestran en la Tabla 16. Una evaluación exhaustiva de la distribución de inositol fosfato ayuda a entender el poder quelante de las legumbres, puesto que existe una estrecha relación con el incremento del grado de fosforilación (Lönnerdal, 2002). El contenido total de los inositol fosfato mostró diferencias entre legumbres, con valores de 6,75 mg/g m.s. para la lenteja y 13,30 mg/g m.s. para la judía Pinta. En los garbanzos Castellano y Sinaloa se encontraron contenidos similares (7,15 y 7,90 mg/g m.s., respectivamente). Los resultados del contenido en ácido fítico en las legumbres estudiadas son similares a estudios previos publicados sobre diversas legumbres, tales como soja, judías comunes y garbanzos (Trugo y col., 1999; Díaz-Batalla y col., 2006; Rubio y col., 2006). Los porcentajes relativos obtenidos de IP₃-IP₆ respecto del total, indican que las legumbres contienen más de un 70% de inositol fosfato en forma de IP₆, llegando a valores del 91% en el caso de la lenteja (Figura 16). La proporción relativa de IP₅ es mucho menor, encontrándose en un intervalo desde el 16% en lenteja hasta el 21% en garbanzo Sinaloa, excepto en el caso de la judía Pinta que presenta valores menores (6%). Los porcentajes relativos a IP₃ e IP₄ son todavía menores y nunca superan el 9%.

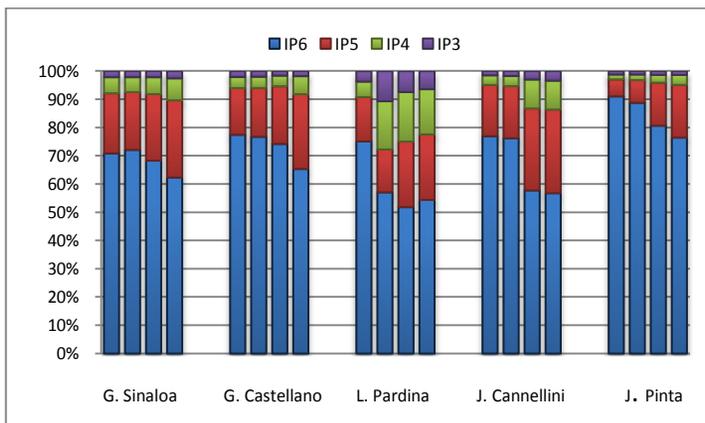


Figura 16. Distribución de las fracciones de inositol fosfato en leguminosas crudas y procesadas.
 (1ª columna: Cr; 2ª columna: R; 3ª columna: R+C; 4ª columna: R+C+D).

Tabla 16. Influencia del procesado de harinas de leguminosas sobre el contenido de inositol fosfato (mg/g m.s.).

Legumbre	IP3	IP4	IP5	IP6	Total
Garbanzo Sinaloa					
Cr	0,17 ± 0,00 ^a	0,45 ± 0,01 ^c	1,68 ± 0,00 ^b	5,60 ± 0,01 ^b	7,90 ± 0,01 ^b
R	0,17 ± 0,00 ^a	0,42 ± 0,01 ^c	1,62 ± 0,00 ^b	5,72 ± 0,01 ^a	7,93 ± 0,01 ^b
R+C	0,18 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,01 ^b	1,97 ± 0,05 ^a	5,71 ± 0,02 ^a	8,36 ± 0,06 ^a
R+C+D	0,20 ± 0,00 ^a	0,61 ± 0,02 ^a	2,14 ± 0,04 ^a	4,89 ± 0,05 ^c	7,85 ± 0,03 ^b
Garbanzo Castellano					
Cr	0,15 ± 0,01 ^a	0,28 ± 0,02 ^c	1,18 ± 0,06 ^d	5,54 ± 0,09 ^d	7,15 ± 0,06 ^c
R	0,19 ± 0,01 ^a	0,38 ± 0,01 ^b	1,65 ± 0,01 ^c	7,33 ± 0,02 ^b	9,55 ± 0,01 ^b
R+C	0,17 ± 0,01 ^a	0,40 ± 0,03 ^b	2,17 ± 0,01 ^b	7,90 ± 0,01 ^a	10,65 ± 0,02 ^a
R+C+D	0,17 ± 0,00 ^a	0,61 ± 0,01 ^a	2,53 ± 0,03 ^a	6,25 ± 0,03 ^c	9,55 ± 0,00 ^b
Lenteja Pardina					
Cr	0,25 ± 0,01 ^c	0,37 ± 0,00 ^c	1,06 ± 0,00 ^a	5,07 ± 0,00 ^a	6,75 ± 0,00 ^a
R	0,45 ± 0,01 ^a	0,72 ± 0,01 ^a	0,64 ± 0,01 ^d	2,41 ± 0,07 ^b	4,22 ± 0,10 ^b
R+C	0,30 ± 0,00 ^b	0,71 ± 0,00 ^a	0,94 ± 0,00 ^b	2,10 ± 0,00 ^c	4,04 ± 0,00 ^c
R+C+D	0,24 ± 0,01 ^c	0,60 ± 0,00 ^b	0,87 ± 0,00 ^c	2,04 ± 0,02 ^d	3,75 ± 0,03 ^d
Judía Cannellini					
Cr	0,18 ± 0,00 ^d	0,41 ± 0,00 ^d	2,18 ± 0,00 ^d	9,27 ± 0,02 ^a	12,05 ± 0,02 ^a
R	0,21 ± 0,00 ^c	0,43 ± 0,00 ^c	2,22 ± 0,01 ^c	9,18 ± 0,02 ^b	12,05 ± 0,01 ^a
R+C	0,31 ± 0,01 ^b	1,07 ± 0,00 ^b	3,03 ± 0,00 ^b	6,04 ± 0,01 ^c	10,45 ± 0,05 ^b
R+C+D	0,35 ± 0,00 ^a	1,06 ± 0,01 ^a	3,07 ± 0,01 ^a	5,89 ± 0,01 ^d	10,38 ± 0,03 ^b
Judía Pinta					
Cr	0,16 ± 0,00 ^a	0,23 ± 0,00 ^d	0,80 ± 0,01 ^d	12,12 ± 0,10 ^a	13,30 ± 0,09 ^a
R	0,16 ± 0,00 ^a	0,26 ± 0,00 ^c	1,06 ± 0,00 ^c	11,73 ± 0,07 ^b	13,20 ± 0,07 ^a
R+C	0,16 ± 0,00 ^a	0,33 ± 0,01 ^b	1,82 ± 0,01 ^b	9,66 ± 0,04 ^c	11,96 ± 0,03 ^c
R+C+D	0,17 ± 0,00 ^a	0,44 ± 0,00 ^a	2,33 ± 0,07 ^a	9,55 ± 0,01 ^d	12,50 ± 0,07 ^b

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Desde el punto de vista nutricional, los efectos negativos en la biodisponibilidad de minerales se observan en los casos donde el grado de fosforilación del inositol es más alto, IP5 e IP6; el resto de productos de hidrólisis formados (IP3-IP4) presentan una baja capacidad para unirse a minerales (Lönnerdal, 2002).

En relación al efecto del proceso de remojo en el contenido total del ácido fítico, sólo se produce una reducción en el caso de la lenteja Pardina (38%), mientras que las judías y el garbanzo Sinaloa no muestran ningún cambio relevante. Sin embargo, en el garbanzo Castellano se observa un incremento importante (33%). Respecto al grado de fosforilación, IP6 sigue siendo el principal inositol fosfato encontrado en todas las legumbres remojadas (Figura 16), por lo tanto la baja presencia de IP3-IP5 indica un bajo nivel de hidrólisis de ácido fítico en las muestras, excepto en el caso de la lenteja donde se observa un aumento de IP₃ (80%) e IP₄ (95%) y un descenso de IP₆ (52%) e IP₅ (40%). En la mayoría de los estudios, el remojo provoca una activación de la fitasa endógena y una difusión al agua de remojo de los productos resultantes, en mayor o menor magnitud dependiendo del tipo de leguminosa (Alonso y col., 2000).

En lo que se refiere al proceso de cocción, se aprecia un comportamiento diferente según el tipo de legumbre. La lenteja, así como las judías Cannellini y Pinta muestran una reducción significativa de los niveles de ácido fítico, siendo más relevante en el caso de la lenteja (40%) que en las variedades de judía (13% en la judía Cannellini y 10% en la judía Pinta). Los porcentajes de las distintas fracciones presentan una disminución de IP6 con el incremento correspondiente de los inositoles IP5-IP3 debido a la hidrólisis de IP6 durante el proceso de cocción. Diversos autores ratifican dicha disminución y similares reducciones en legumbres cocidas en autoclave a diferentes tiempos y temperaturas, logrando mayores reducciones a 121 °C durante 90 minutos (Khatoun y Prakash, 2004; Rehman y Shah, 2005). Sin embargo, las dos variedades de garbanzo muestran elevados niveles de ácido fítico en las harinas cocidas, siendo más acentuado en el garbanzo Castellano (34% de incremento). De algún modo estos fitatos presentan una mayor resistencia al proceso de cocción.

Respecto al proceso de deshidratación después de la cocción, se observa en general una reducción del ácido fítico, siendo más acentuada en el caso de la lenteja (44%).

Por lo tanto, si comparamos los valores de inositol fosfato que presenta la harina de lenteja deshidratada con los de otras harinas de legumbres, se puede deducir, que la harina de lenteja presentará una mejor disponibilidad mineral debido a su bajo contenido de inositol fosfato. Si observamos los resultados obtenidos de los contenidos de ácido fítico podemos concluir que este antinutriente sólo se vio afectado parcialmente por el procesado térmico (cocción y deshidratación) debido a su naturaleza estable frente al calor. Los resultados de este estudio concuerdan con otras publicaciones en las que se estudian procesos de cocción, autoclave, germinación y extrusión, en los que se aprecia una mayor reducción como consecuencia de la germinación durante 72h en judías comunes y como efecto de la cocción en autoclave en judías Cannellini (Alonso y col., 2000; El-Hady y Habiba, 2003; Rehman y Shah, 2005). Sin embargo, la aplicación de una etapa de deshidratación después de un tratamiento térmico logra reducir en mayor medida el contenido de inositol fosfato.

Inhibidores Enzimáticos

Los inhibidores de proteasas y de α -amilasa se encuentran extensamente distribuidos en las legumbres. Las legumbres crudas estudiadas presentan contenidos muy diferentes de estos antinutrientes (Tabla 17).

En primer lugar, ambos tipos de judías contienen cantidades significativas de inhibidores enzimáticos, mostrando la judía Cannellini niveles mayores que la Pinta, destacando los correspondientes al inhibidor de α -amilasa (1,4 mg/g m.s.). En relación a los garbanzos, ambas variedades contienen cantidades similares de inhibidor de tripsina, mientras que el inhibidor de quimotripsina sólo se cuantifica en el garbanzo Castellano. No se observa la presencia de inhibidor de α -amilasa en las muestras de garbanzo Sinaloa, y los contenidos son inferiores al 1% en el caso del garbanzo Castellano. En la lenteja Pardina no se ha detectado la presencia de inhibidores enzimáticos.

Tabla 17. Influencia del procesado de harinas de leguminosas sobre el contenido de inhibidores de proteasas y amilasas (mg/g m.s.).

Legumbre	Inhibidor de α -Amilasa	Inhibidor de Tripsina	Inhibidor de Quimotripsina
Garbanzo Sinaloa			
Cr	n.d.	0,912 \pm 0,011 ^b	n.d.
R	n.d.	0,997 \pm 0,013 ^a	n.d.
R+C	n.d.	0,074 \pm 0,008 ^c	n.d.
R+C+D	n.d.	0,074 \pm 0,009 ^c	n.d.
Garbanzo Castellano			
Cr	0,013 \pm 0,002 ^b	0,895 \pm 0,003 ^b	0,461 \pm 0,007 ^b
R	0,022 \pm 0,001 ^a	1,007 \pm 0,002 ^a	0,752 \pm 0,010 ^a
R+C	n.d.	0,058 \pm 0,009 ^c	n.d.
R+C+D	n.d.	0,055 \pm 0,007 ^c	n.d.
Lenteja Pardina			
Cr	n.d.	n.d.	n.d.
R	n.d.	n.d.	n.d.
R+C	n.d.	n.d.	n.d.
R+C+D	n.d.	n.d.	n.d.
Judía Cannellini			
Cr	1,430 \pm 0,013 ^a	1,270 \pm 0,023 ^b	0,980 \pm 0,010 ^b
R	1,200 \pm 0,015 ^b	1,550 \pm 0,018 ^a	1,700 \pm 0,018 ^a
R+C	0,068 \pm 0,010 ^c	0,012 \pm 0,003 ^c	n.d.
R+C+D	0,061 \pm 0,003 ^c	0,010 \pm 0,002 ^c	n.d.
Judía Pinta			
Cr	0,990 \pm 0,012 ^a	1,090 \pm 0,022 ^b	0,713 \pm 0,012 ^b
R	0,660 \pm 0,011 ^b	1,290 \pm 0,014 ^a	1,001 \pm 0,009 ^a
R+C	0,082 \pm 0,013 ^c	0,009 \pm 0,003 ^c	n.d.
R+C+D	0,110 \pm 0,020 ^c	0,009 \pm 0,003 ^c	n.d.

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio \pm Desviación Estándar ($n = 6$). n.d.= no detectado.

El incremento del contenido de los inhibidores de proteasas presentes en las legumbres remojadas fue más acentuado en el caso de las judías que en el resto de las legumbres. Esto puede ser en parte debido al efecto de pérdida de componentes solubles durante esta etapa de hidratación. Sin embargo este comportamiento no se observa en el inhibidor de α -amilasa, mostrando reducciones destacadas en su contenido desde la etapa de remojo hasta la deshidratación (96 y 89% en judía Cannellini y judía Pinta, respecto el contenido inicial).

Estos factores antinutricionales necesitan ser inactivados mediante un pre-tratamiento adecuado del alimento antes de ser consumido con el fin de conseguir así un producto seguro (Hajós y Osagie, 2004). En este sentido, la Tabla 17 muestra que los métodos de cocción y deshidratación reducen significativamente ($p < 0,05$) los niveles de inhibidores de proteasas, hasta valores prácticamente despreciables. En general, en comparación con las legumbres crudas, las reducciones de los niveles de antinutrientes observadas con el procesado térmico, siguen el mismo patrón encontrado en la literatura.

Lectinas

Para obtener una evaluación inicial del contenido de lectinas en todas las muestras de legumbres se llevó a cabo un ensayo de hemaglutinación (Tabla 18) (Grant, 1991).

Tabla 18. Influencia del procesado de harinas de leguminosas sobre el contenido de lectinas (mg/100 mg m.s.).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini		Judía Pinta	
	AHC	AHC	AHL	AHP	ELISA AHP	AHP	ELISA AHP
Cr	N.D.	N.D.	0,27 ± 0,00 ^a	3,92 ± 0,00 ^c	1,19 ± 0,05 ^b	3,92 ± 0,00 ^c	1,30 ± 0,07 ^b
R	N.D.	N.D.	0,20 ± 0,07 ^a	3,92 ± 0,00 ^c	1,41 ± 0,02 ^a	3,92 ± 0,00 ^c	1,53 ± 0,10 ^a
R+C	N.D.	N.D.	0,02 ± 0,00 ^a	0,75 ± 0,25 ^b	n.d.	0,75 ± 0,25 ^b	n.d.
R+C+D	N.D.	N.D.	0,02 ± 0,00 ^a	0,25 ± 0,00 ^a	n.d.	0,25 ± 0,00 ^a	n.d.

AHC: actividad de hemaglutinación de *Cicer Arietinum*.

AHP: actividad de hemaglutinación de *Phaseolus Vulgaris*.

AHL: actividad de hemaglutinación de *Lens culinaris*.

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar (n = 6). N.D.= No Determinado. n.d.= no detectado.

Los resultados indican unos niveles mayores de hemaglutinación para las judías, 3,92 mg/100 mg de hemaglutinina de *Phaseolus* (AHP) que para las lentejas 0,27 mg/100 mg de lectina de *Lens culinaris* (AHL), lo que está en concordancia con la literatura (Grant, 1991; Burbano y col., 1999). En los garbanzos (AHC) no se determinó debido a la escasa presencia de lectina en dicha leguminosa y por tanto, irrelevante para el presente trabajo.

Por lo que respecta al efecto del procesado, el remojo no produjo modificaciones en el contenido de lectinas, sin embargo el tratamiento térmico provocó una drástica reducción, más acusada aún en las legumbres deshidratadas (94% en judías y 92% en lenteja). Además de realizar el test de hemaglutinación, también se llevó a cabo en las judías un ensayo indirecto competitivo ELISA. Los resultados mostraron que la alubia Pinta contenía mayor concentración de lectina (1,30 mg/100 mg ELISA AHP) que la judía Cannellini (1,19 mg/100 mg ELISA AHP), valores menores que los detectados siguiendo el método de dilución en serie, usando células sanguíneas procedentes de ratas, lo que podría indicar una menor cuantificación de la actividad de hemaglutinación del ensayo inmunoenzimático competitivo ELISA. El proceso de remojo en las judías muestra mayores niveles de lectina (18%) en las muestras remojadas que en las crudas. Una tendencia similar ya se había observado en el resto de factores antinutricionales estudiados (ácido fítico e inhibidores enzimáticos), lo que confirmaría un efecto de concentración. Asimismo, se puede apreciar un claro impacto del procesado térmico en las muestras, puesto que no se detectó presencia de lectinas en muestras cocidas y deshidratadas.

α-Galactósidos (GOS)

En la Tabla 19 está representado el contenido de α -galactósidos (GOS) presentes en las muestras de las harinas de leguminosas estudiadas. En las harinas crudas analizadas encontramos una mayor presencia de α -galactósidos en las dos variedades de garbanzo, destacando el Castellano (48,5 mg/g m.s.); sin embargo la presencia de estos antinutrientes en las judías Cannellini y Pinta es mucho más reducida (26,7 y 26,9 mg/g m.s., respectivamente).

Tabla 19. Influencia del procesado de harinas de leguminosas sobre el contenido de α -galactósidos (mg/g m.s.).

Legumbre	Rafinosa	Ciceritol	Estaquiosa	GOS totales
Garbanzo Sinaloa				
Cr	3,9 ± 0,3 ^c	20,3 ± 1,8 ^c	14,0 ± 1,1 ^c	38,2
R	2,8 ± 0,2 ^b	15,0 ± 1,2 ^b	10,5 ± 0,9 ^b	28,3
R+C	2,3 ± 0,2 ^b	14,0 ± 1,4 ^b	9,6 ± 0,9 ^b	25,9
R+C+D	1,3 ± 0,1 ^a	9,3 ± 0,7 ^a	7,5 ± 0,6 ^a	18,1
Garbanzo Castellano				
Cr	3,2 ± 0,3 ^c	27,6 ± 1,0 ^d	17,7 ± 0,6 ^c	48,5
R	2,6 ± 0,2 ^b	20,3 ± 0,9 ^c	12,5 ± 1,3 ^b	35,4
R+C	1,4 ± 0,2 ^a	9,8 ± 0,4 ^a	9,8 ± 0,9 ^a	21,0
R+C+D	1,3 ± 0,2 ^a	10,9 ± 0,5 ^b	8,8 ± 0,7 ^a	21,0
Lenteja Pardina				
Cr	2,2 ± 0,1 ^d	10,5 ± 0,9 ^d	16,4 ± 1,5 ^c	29,1
R	1,5 ± 0,1 ^c	5,2 ± 0,4 ^c	11,0 ± 1,0 ^b	17,7
R+C	1,1 ± 0,1 ^b	3,5 ± 0,2 ^b	9,4 ± 0,9 ^b	14
R+C+D	0,5 ± 0,04 ^a	1,2 ± 0,1 ^a	3,3 ± 0,3 ^a	5
Judía Cannellini				
Cr	1,9 ± 0,8 ^c	n.d.	24,8 ± 1,0 ^d	26,7
R	1,2 ± 0,0 ^c	n.d.	18,3 ± 0,7 ^c	19,5
R+C	0,6 ± 0,0 ^b	n.d.	7,1 ± 0,2 ^b	7,7
R+C+D	0,5 ± 0,0 ^a	n.d.	5,9 ± 0,4 ^a	6,4
Judía Pinta				
Cr	1,6 ± 0,2 ^b	n.d.	25,3 ± 0,1 ^c	26,9
R	1,3 ± 0,1 ^b	n.d.	18,5 ± 1,0 ^b	19,8
R+C	1,0 ± 0,1 ^a	n.d.	16,2 ± 0,9 ^a	17,2
R+C+D	0,9 ± 0,1 ^a	n.d.	14,9 ± 0,5 ^a	15,8

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio \pm Desviación Estándar ($n = 6$). n.d.= no detectado.

GOS: α -galactósidos (Rafinosa+Ciceritol+Estaquiosa).

En relación al estudio pormenorizado de α -galactósidos, destacan las judías con valores de estaquiosa que oscilan entre el 93-94% respecto al valor total de GOS; en el caso de la lenteja se observa una proporción menor de estaquiosa (56%) respecto al total de GOS (Figura 17). En cambio, en el caso de los garbanzos, el principal α -galactósido corresponde al pico que se encuentra después de la rafinosa y antes de la estaquiosa; este pico se trata probablemente del ciceritol, cuyo contenido representa un 53% en el caso del garbanzo Sinaloa y un 57% para el Castellano. Dicho azúcar también fue detectado en la lenteja Pardina aunque en menor proporción (36%). La verbascosa no fue identificada en las legumbres estudiadas.

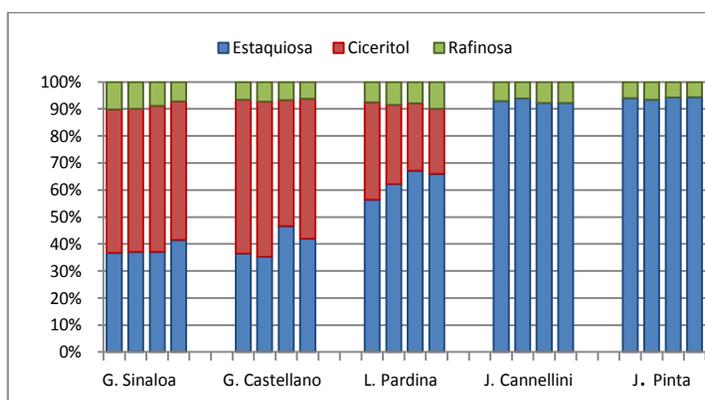


Figura 17. Distribución de los distintos α -galactósidos (%) presentes en leguminosas crudas y procesadas. (1ª columna: Cr; 2ª columna: R; 3ª columna: R+C; 4ª columna: R+C+D).

Durante el proceso de remojo se produce una gran reducción del contenido de GOS en todas las legumbres analizadas, destacando la lenteja, que es la que experimenta una mayor reducción (39%), debido principalmente a la disminución en el contenido del ciceritol (50%). El resto de legumbres muestra una reducción muy similar del total de GOS (\cong 26%). La judía Pinta remojada exhibe contenidos de rafinosa (1,3 mg/g m.s.) muy similares a los de la judía Cannellini (1,2 mg/g m.s.), experimentando ésta última una mayor reducción respecto a la muestra cruda (37%). Sanchez-Mata. (1999) indican la evidencia de una reducción de los niveles de GOS durante el remojo; también exponen que la diferencia del porcentaje de reducción en los azúcares podría ser debida a las diferentes solubilidades que

presentan y a su velocidad de difusión en el agua de remojo. Sin embargo, otros autores han observado incrementos del contenido de carbohidratos solubles después del remojo (Liu y Markakis, 1987).

El proceso de cocción tras la previa etapa de remojo, facilita la solubilización de los azúcares. La reducción experimentada en la cocción respecto a la etapa de remojo es más acusada en algunas legumbres como la judía Cannellini y el garbanzo Castellano (60 y 41%, respectivamente) y casi inapreciable en el caso de la judía Pinta y el garbanzo Sinaloa (13 y 8%, respectivamente). El principal α -galactósido presente en las muestras después de haberlas sometido a un proceso de cocción es la estaquiosa (excepto en el garbanzo Sinaloa), llegando a representar el 94% del total de GOS analizados en la judía Pinta (Figura 17). El efecto del procesado sobre el contenido de α -galactósidos en otras legumbres como el algarrobo y el guisante ha sido estudiado previamente por diversos autores, destacando todos ellos la efectividad del remojo y del tratamiento térmico sobre el contenido de α -galactósidos analizados (Vijayakumari y col., 1997; Ibrahim y col., 2002). Varios autores coinciden en que los tratamientos domésticos, los procesos de fermentación y germinación, o incluso los tratamientos con α -galactosidasa, reducen los compuestos responsables de la flatulencia, aunque las reducciones que experimentan no dependen solamente del tipo de procedimiento seguido, tales como el tiempo de cocción y la temperatura empleada, sino que también influye el tipo de legumbre utilizada (Somari y Balogh, 1993; Vidal-Valverde y col., 1998). Sin embargo, en algunos casos se ha observado incrementos en los contenidos de estaquiosa, rafinosa y verbascosa después de haber sometido las muestras a un proceso de cocción, probablemente debido a la interacción con macromoléculas (Liu y Markakis, 1987).

Una vez que las muestras son sometidas a etapas de remojo, cocción y deshidratación, observamos que es en la última etapa donde se aprecian mayores reducciones de GOS si lo referimos a las muestras crudas. La lenteja es la legumbre que experimenta una mayor reducción (83%), seguida de la judía Cannellini (76%), los dos garbanzos (57 y 53% en el Castellano y Sinaloa respectivamente) y por último la judía Pinta (41%) (Figura 18).

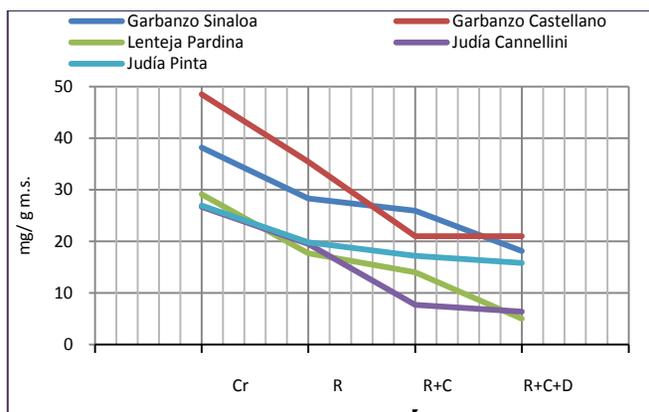


Figura 18. Reducción de los niveles de α -galactósidos en muestras de leguminosas crudas y procesadas.

No obstante, hay que indicar que la etapa de deshidratación no siempre supone una reducción en el contenido de GOS respecto a la cocción, ya que solo el garbanzo Sinaloa y la lenteja Pardina deshidratados muestran un nivel de GOS notoriamente inferior a la de los productos cocidos. Las diferencias en la magnitud de la reducción de GOS pueden ser debidas a diferencias en el grosor y permeabilidad de la cubierta de la semilla (Frías y col., 2000). No obstante, hay que indicar que la etapa de deshidratación no siempre supone una reducción de GOS homogénea en todas las legumbres, pudiendo ser debidas a diferencias en el grosor y permeabilidad de la cubierta de la semilla (Frías y col., 2000). La estaquiosa sigue siendo el α -galactósido mayoritario en las muestras de leguminosas deshidratadas, excepto en los garbanzos, donde el ciceritol se presenta como el α -galactósido mayoritario ($\cong 10,1$ mg/g m.s.). Los resultados de las muestras deshidratadas presentan mayores reducciones de GOS en las harinas estudiadas que en las obtenidas por otros autores previamente (Vidal-Valverde y col., 1998; Sánchez-Mata y col., 1999; Egounlety y Aworh., 2003). Por lo tanto, la última etapa de deshidratación aplicada al proceso térmico trae consigo importantes reducciones, superiores a las obtenidas por otros autores en harinas de leguminosas donde únicamente se aplicaban procesos de remojo y cocción.

Conclusiones

La evaluación del impacto del proceso de deshidratación industrial sobre los factores antinutricionales muestra que:

- El ácido fítico por lo general ve reducido su contenido durante la deshidratación, siendo más acentuada dicha reducción en el caso de las lentejas. La fracción mayoritaria en todas las leguminosas fue IP₆ que experimentó también destacadas disminuciones, excepto en garbanzo Castellano;
- Entre las muestras estudiadas, las judías Pinta y Canellini son las legumbres con mayor nivel de inhibidores enzimáticos y lectinas; no obstante, el procesamiento térmico (cocción y/o deshidratación) redujo estos antinutrientes hasta niveles despreciables;
- El procesamiento originó drásticas reducciones en el contenido de a-galactósidos, compuestos cuyo perfil varía con el tipo de leguminosas. Las mayores reducciones se observaron en lenteja y judía blanca.

El proceso de deshidratación produce, por tanto, un impacto muy relevante en la disminución de la presencia de factores antinutricionales en leguminosas lo que permite la utilización segura de estas harinas deshidratadas.

CAPITULO 3: INFLUENCIA DEL PROCESAMIENTO SOBRE LA FRACCIÓN FENÓLICA EN LAS HARINAS DE LEGUMINOSAS

Interés del Estudio

Los compuestos fenólicos representan un grupo importante de compuestos bioactivos en las leguminosas. Éstas contienen una gran cantidad y diversidad de compuestos fenólicos dependiendo de la especie y variedad, y también de si las leguminosas son o no coloreadas. Estos compuestos se encuentran como compuestos no flavonoideos: ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, tanto libres como unidos a otras moléculas, y flavonoideos, como procianidinas, flavonoles, flavanoles, isoflavonas, flavonas, antocianos, etc.

Numerosas actividades biológicas se atribuyen a los compuestos fenólicos, como ser factores de prevención y de protección frente a diversas enfermedades, tener poder antioxidante por su capacidad de captación de radicales libres, por lo que se consideran beneficiosos para el mantenimiento y recuperación de un estado saludable. Existen numerosos trabajos sobre el análisis de compuestos fenólicos de frutos o productos derivados de éstos (vinos, zumos, etc.) que ponen de manifiesto su riqueza en este tipo de compuestos. Desde hace unos años también se está estudiando su presencia en las legumbres, ya que resulta de gran interés el amplio perfil fenólico que éstas presentan.

Por todo lo anterior, se consideró necesario evaluar los cambios producidos en la fracción fenólica como consecuencia del tratamiento térmico de cocción y posterior deshidratación industrial realizado sobre las harinas de leguminosas objeto de estudio.

Métodos Analíticos

Análisis de Compuestos Fenólicos

Extracción

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó en muestras crudas y procesadas de cada una de las legumbres estudiadas. De esta manera se evaluaron los cambios producidos en dichos compuestos como consecuencia del tratamiento térmico.

La extracción se realizó a partir de 5 g de harina de legumbres que se maceraron con 50 mL de metanol-HCl (0,1%)/agua (80:20, v/v) durante 15 horas, a 25 °C, en un baño con agitación, repitiéndose la extracción tres veces. Los extractos metanólicos se unieron y se concentraron hasta la cuarta parte de su volumen. Los disolventes utilizados como extractantes se eligen de acuerdo con la polaridad de los compuestos fenólicos a estudiar. La presencia de grupos hidroxilo no sustituidos o de azúcares aumenta la polaridad y por lo tanto la solubilidad en agua, mientras que la metoxilación la disminuye (Harborne, 1989).

Purificación

Una vez obtenidos los extractos solubles se procede a su purificación (Dueñas y col., 2005). Para ello se realizaron extracciones con éter etílico (3x15 mL) y a continuación con acetato de etilo (3x15 mL) para obtener selectivamente los compuestos fenólicos en la fase orgánica. Se reunieron las fracciones orgánicas, se eliminó el agua residual con sulfato sódico anhidro y se concentró a sequedad en el rotavapor manteniendo una temperatura inferior a 35 °C, para evitar polimerizaciones y alteraciones de los compuestos fenólicos. El residuo obtenido se disolvió en 1 mL de metanol/agua (1:1), y se conservó a una temperatura de -20 °C hasta su posterior análisis por HPLC.

Análisis de familias de compuestos fenólicos

El análisis global se realiza a partir de los extractos metanólicos, utilizando distintos métodos espectrofotométricos basados en las propiedades químicas de las distintas familias o grupos de compuestos fenólicos. De esta manera se determinaron:

- Polifenoles totales, cuantificados mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, que se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilo de los fenoles (Singleton y Rossi, 1965).
- Catequinas, por reacción con *p*-vainillina en medio ácido (Swain y Hills, 1959).
- Taninos condensados o proantocianidinas, basándose en la transformación de las proantocianidinas en antocianidinas por calentamiento en medio ácido en presencia de Fe⁺² (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1965).

Análisis de compuestos fenólicos individualizados

Para el análisis de compuestos fenólicos individualizados se ha empleado la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), técnica muy desarrollada y que ha demostrado ser muy útil en la separación, identificación y cuantificación de mezclas complejas de compuestos fenólicos. El sistema de detección más empleado, y que ha sido utilizado en este estudio, es el de espectroscopia UV-Vis, siendo el detector de fotodiodos alineados (PAD), que permite obtener el espectro UV-Visible de los picos durante el desarrollo cromatográfico proporcionando información sobre diferentes parámetros espectrales. Asimismo, también ha sido empleado el detector de espectrometría de masas (MS) para la identificación de este tipo de compuestos. Esta técnica proporciona información sobre el peso molecular, generando fragmentos que facilitan la elucidación estructural de la molécula (Mauri y col., 1999). Uno de los métodos de espectrometría de masas más utilizada es la ionización por electrospray (ESI) que tiene la ventaja de facilitar la ionización de sustancias polares y no volátiles. Esta técnica ha sido muy utilizada para la identificación de taninos condensados en distintos tipos de extractos (Gu y col., 2002; Hayasaka y col., 2003). Además, se ha empleado un acoplamiento MS/MS, para elucidar la estructura de algunos compuestos fenólicos, como derivados hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos (Baderschneider y Winterhalter, 2001).

En este trabajo, el análisis individualizado de los compuestos fenólicos se ha realizado por HPLC-PAD y HPLC-MS.

a) Cromatografía líquida de alta eficacia con detector de fotodiodos alineados (HPLC-PAD). El sistema cromatográfico usado (Waters) está compuesto por una bomba cuaternaria 600 MS, un inyector universal U6K y un detector de fotodiodos alineados 2001 y sistema de tratamiento de datos Millenium 32 de Waters. La separación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo en una columna de fase inversa NovaPak C₁₈ (300 x 3,9 mm, 4 µm de tamaño de partícula). Se empleó una fase móvil en gradiente, constituida por un solvente A: agua/ácido acético (98:2 v/v) y un solvente B: agua/acetoneitrilo/ácido acético (78:20:2, v/v/v), con un flujo de 1 ml/min. La detección se realizó mediante barrido desde 210 hasta 400 nm. Las muestras fueron inyectadas por triplicado en un volumen de 25 µl.

b) Cromatografía líquida de alta eficacia con detector de espectrometría de masas (HPLC-MS). El sistema cromatográfico Hewlett-Packard series 1100 MS (Palo Alto, CA) está equipado con un detector de fotodiodos alineados y con un espectrómetro de masas (MS) cuadrupolar, utilizando como interfase ionización por electrospray (ESI) en modo negativo. La columna y la fase móvil empleadas son las mismas que en HPLC-PAD. Las condiciones de ESI fueron las siguientes: temperatura 340 °C, flujo del gas de secado (N₂) 10 mL/minuto; presión del nebulizador 40 psi, voltaje del capilar 4000 V. Se trabajó en modo negativo. Se aplicó un voltaje de fragmentación variable, 100 V (m/z <200), 200 V (m/z 200-1000), 250 V (m/z 1000-3000). Los espectros de masas se registraron entre m/z 100 y m/z 3000.

La identificación de los compuestos fenólicos se llevó a cabo mediante la comparación de los tiempos de retención y los espectros UV con los de los patrones correspondientes y confirmados por HPLC-MS. Los patrones empleados eran de Extrasynthèse (Francia) y de Sigma-Aldrich (Alemania). Aquellos compuestos de los que no existen patrones comerciales, como los derivados de los ácidos hidroxicinámicos, el glicósido de (+)-catequina, derivados de flavonoles y las proantocianidinas, se identificaron según los parámetros espectrales de UV y por los datos obtenidos del análisis de HPLC-MS (ESI) (Dueñas y col., 2002; 2004).

Para la cuantificación de los compuestos se utilizó el método del patrón externo a 280 y 320 nm según la absorción máxima de cada compuesto. Las rectas de calibrado de los compuestos se calcularon inyectando distintas cantidades de la solución patrón, realizándose la regresión lineal frente al área del pico obtenida en cada caso. Los compuestos de los que no hay patrones comerciales, como proantocianidinas se cuantificaron con la recta de calibrado de la (+)-catequina; el resto de compuestos se cuantificaron con las rectas de calibrado de los compuestos libres correspondientes.

Determinación de la Capacidad Antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante de las legumbres crudas, remojadas, cocidas y deshidratadas se realizó según la metodología ORAC (Oxygen-Radical Absorbance Capacity, capacidad de absorción de radicales de oxígeno) empleando fluoresceína como sustancia fluorescente (ORAC-FL) (Dávalos y col., 2004). La

reacción se lleva a cabo en un volumen final de 200 μL . La solución antioxidante [Trolox (1-8 μM) y extracto fenólico a diferentes diluciones] (20 μL) y la fluoresceína (120 μL ; 70 nM, concentración final) se preincuban durante 10 minutos a 37 °C. A continuación, se adiciona AAPH ((2,2'-Azobis (2-Amidino-Propano) Dihidroclorado)) (60 μL ; 12mM, concentración final), y se incuba a 37 °C, midiendo la fluorescencia cada 56 segundos durante 98 minutos. Para ello, se emplea un lector de placas Polarstar Galaxy (BMG Labtechnologies GMBH, Offenburg, Germany) con filtros de emisión y excitación de 520 y 485 nm, respectivamente. La medida de fluorescencia del equipo se controla mediante el software Fluostar galaxy (versión 4.31-0). Se utilizan microplacas negras de 96 pocillos (96F, NuncTM, Denmark). Todas las mezclas de reacción se preparan por duplicado y se llevan a cabo por lo menos tres ensayos independientes para cada muestra. Las curvas de fluorescencia se normalizaron con respecto a la curva del blanco (sin antioxidante). A partir de las curvas normalizadas se calcula el área bajo la curva (AUC, area under the curve) de descenso de fluorescencia utilizando la siguiente fórmula:

$$AUC = 1 + \sum_{i=1}^{i=98} f_i/f_0$$

en donde f_0 es la lectura de la fluorescencia inicial en el minuto 0 y f_i es la lectura de la fluorescencia correspondiente al tiempo i .

El área bajo la curva neta (AUC *neta*) se calculará del siguiente modo:

$$AUC_{neta} = AUC_{antioxidante} - AUC_{blanco}$$

Se calcula la ecuación de regresión entre el área neta y la concentración de antioxidante. El valor de ORAC_{FL} se calcula dividiendo la pendiente de la ecuación correspondiente al extracto fenólico entre la pendiente de la ecuación correspondiente al Trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E). Los valores finales de ORAC se expresan en μmol de Trolox equivalentes (TE)/g de muestra analizada.

Resultados y Discusión

Compuestos Fenólicos Totales

Los contenidos totales de los compuestos fenólicos (Tabla 20) varían significativamente entre las legumbres estudiadas. Las muestras crudas de lenteja Pardina y de judía Pinta, muestran los mayores niveles de fenoles totales (5,58 y 5,38 mg/g m.s., respectivamente), seguidos del garbanzo Castellano y Sinaloa (3,04 y 2,79 mg/g m.s., respectivamente) mientras que la judía Cannellini presenta el menor contenido de polifenoles (2,08 mg/g m.s.). Al igual que sucedió en los anteriores compuestos antinutricionales estudiados, la influencia del procesado también será determinante en el contenido de polifenoles.

El proceso de remojo no produce cambios relevantes en el contenido total de fenoles de la mayoría de las legumbres, excepto en el caso de la lenteja, que muestra una considerable reducción (76%), posiblemente debida a la presencia de fenoles en la periferia del grano, que podrían pasar al agua a través de la cubierta de la semilla. Un comportamiento similar se ha observado en el escaldado de pieles de almendra (Garrido y col., 2007).

Sin embargo, es la cocción el proceso que trae consigo el mayor descenso en el contenido de fenoles en todas las legumbres, con reducciones del 21-50%. Estos resultados están de acuerdo con los publicados anteriormente por otros autores para muestras de frijoles y distintas variedades de judías (Alonso y col., 2000; Manach y col., 2004). Por otra parte, los resultados del presente estudio muestran que la etapa de deshidratación prácticamente no produce ningún cambio significativo en el contenido de compuestos fenólicos si lo comparamos con la etapa de cocción, excepto en el caso de la lenteja que experimenta en la deshidratación una reducción del 21% respecto a la etapa de cocción. Los niveles de compuestos fenólicos totales encontrados por Asami y col., (2003) en fresas, frutos del bosque y maíz deshidratados fueron del orden del 16-43% menores que los encontrados en muestras congeladas o liofilizadas. La disminución del contenido de fenoles encontrada durante la cocción y deshidratación puede ser debida bien a la unión establecida entre los polifenoles con otros compuestos como proteínas, o bien, a las alteraciones en la estructura química de los polifenoles que no pueden ser extraídos e identificados por los métodos actualmente disponibles (Davis, 1981).

Tabla 20. Influencia del procesado en las harinas de leguminosas sobre la composición de fenoles totales, catequinas totales y procianidinas totales.

Legumbre	Fenoles Totales (mg/ g)	Proantocianidinas Totales (mg/ g)	Catequinas Totales (mg/ g)	PC/CAT
Garbanzo Sinaloa				
Cr	2,79 ± 0,11 ^a	2,19 ± 0,07 ^a	0,32 ± 0,01 ^c	6,84
R	2,56 ± 0,15 ^a	2,07 ± 0,11 ^a	0,61 ± 0,03 ^a	3,39
R+C	1,83 ± 0,18 ^b	1,61 ± 0,02 ^c	0,59 ± 0,02 ^a	2,73
R+C+D	1,84 ± 0,03 ^b	1,28 ± 0,08 ^b	0,42 ± 0,05 ^b	3,05
Garbanzo Castellano				
Cr	3,04 ± 0,23 ^a	1,96 ± 0,03 ^a	0,58 ± 0,01 ^c	3,37
R	3,05 ± 0,14 ^a	2,12 ± 0,14 ^a	1,08 ± 0,03 ^a	1,96
R+C	1,74 ± 0,06 ^b	0,75 ± 0,05 ^c	0,95 ± 0,05 ^b	0,79
R+C+D	1,69 ± 0,01 ^b	1,80 ± 0,04 ^b	1,13 ± 0,04 ^a	1,59
Lenteja Pardina				
Cr	5,58 ± 0,06 ^a	5,91 ± 0,28 ^a	3,24 ± 0,05 ^a	1,82
R	1,35 ± 0,13 ^d	0,76 ± 0,19 ^b	2,54 ± 0,01 ^b	0,31
R+C	2,79 ± 0,05 ^b	1,17 ± 0,26 ^b	1,60 ± 0,05 ^c	0,73
R+C+D	2,19 ± 0,02 ^c	1,18 ± 0,01 ^b	1,42 ± 0,01 ^d	0,83
Judía Cannellini				
Cr	2,08 ± 0,01 ^a	n.d.	0,54 ± 0,07 ^d	-
R	2,11 ± 0,01 ^a	n.d.	0,67 ± 0,04 ^c	-
R+C	1,64 ± 0,04 ^b	n.d.	1,32 ± 0,02 ^b	-
R+C+D	2,13 ± 0,03 ^a	n.d.	1,46 ± 0,03 ^a	-
Judía Pinta				
Cr	5,38 ± 0,06 ^a	6,81 ± 0,51 ^a	4,38 ± 0,08 ^a	1,55
R	4,71 ± 0,12 ^b	5,53 ± 0,12 ^b	2,76 ± 0,09 ^b	0,81
R+C	2,84 ± 0,18 ^c	n.d.	2,28 ± 0,11 ^c	-
R+C+D	2,95 ± 0,03 ^c	n.d.	2,24 ± 0,03 ^c	-

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). PC/CAT: proantocianidinas totales/catequinas totales. n.d.: no detectado.

No obstante, otros procesos térmicos como el tostado en piel de almendras y cacahuets aumentan el contenido de polifenoles totales debido posiblemente a la degradación de otras estructuras fenólicas, como proantocianidinas altamente polimerizadas y de baja extractabilidad (Yu y col., 2006) y flavonoles glicosilados (Garrido y col., 2008), y también al aumento de la extractabilidad fenólica debido a la destrucción de las estructuras celulares como las paredes celulares (Dewanto y col., 2002).

Los cambios producidos en el contenido de las diferentes familias de compuestos fenólicos, como consecuencia del procesado dependen del tipo de legumbre y cultivo empleados. Los compuestos que se pueden ver más afectados por el procesado térmico son las proantocianidinas y las catequinas, ya que existe una relación estructural entre ambos compuestos. El contenido de proantocianidinas (taninos condensados) en harinas de leguminosas crudas presenta un perfil similar al de los fenoles totales; así, se observan valores máximos en el caso de la judía Pinta (6,81 mg/g m.s.) y la lenteja (5,91 mg/g m.s.) y mínimos en el caso del garbanzo Sinaloa y Castellano (2,19 y 1,96 mg/g m.s., respectivamente). No se ha detectado presencia de proantocianidinas en la judía Cannellini. Estos resultados ponen de manifiesto una relación relevante entre el color de la cubierta de la semilla y el contenido de proantocianidinas, aunque esta relación es algo controvertida según algunos autores (Beninger y Hosfield, 1999; Díaz-Batalla y col., 2006).

Respecto al proceso de remojo podemos observar una disminución de los niveles de proantocianidinas en el caso de la lenteja (87%) y de la judía Pinta (67%), aunque en las dos variedades de garbanzo esta reducción no se haga presente. En lo que se refiere al proceso de cocción, se observan destacadas reducciones de proantocianidinas en todas las legumbres (excepto en lenteja), llegando a no ser detectadas en el caso de la judía Pinta. La deshidratación trae consigo resultados similares en el contenido de proantocianidinas respecto las legumbres cocidas, excepto en el caso del garbanzo Castellano que ve incrementado su contenido. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Alonso y col. (2000) y El-Hady y Habiba (2003) en otras legumbres donde utilizaban procesos de extrusión. En general, la deshidratación a temperaturas superiores a 60 °C es desfavorable para la extracción eficaz de compuestos fenólicos debido a la posibilidad de provocar

condensaciones oxidativas o descomposición de compuestos termolábiles como (+)-catequina (Asami y col., 2003).

La relación proantocianidinas totales/catequinas totales, aproximación relativa del grado de polimerización de las proantocianidinas, presenta una tendencia similar a lo largo del proceso en todas las muestras. Desde el punto de vista nutricional es importante que el grado de polimerización de proantocianidinas sea bajo, ya que el número de interacciones de proantocianidinas-proteínas aumenta con el grado de polimerización (Davis, 1981; Ricardo-da-Silva y col., 1991). A la vista de los resultados obtenidos, se observa que el grado de polimerización disminuye significativamente como consecuencia de los procesos de remojo y cocción, mientras que aumenta durante la etapa de deshidratación. El incremento en esta última etapa puede estar relacionado con distintos factores tales como las altas temperaturas, cambios en la solubilidad real y en las reacciones químicas que podrían modificar la accesibilidad de los análisis (Tabera y col., 1995). Asimismo, existen estudios que ponen de manifiesto un aumento en las proantocianidinas más polimerizadas durante la germinación y fermentación de lentejas (Bartolomé y col., 1997).

Compuestos Fenólicos Pormenorizados

La composición fenólica de las leguminosas presenta diferencias principalmente cualitativas entre especies y cuantitativas entre variedades, por lo que el estudio pormenorizado de la composición fenólica contribuirá al conocimiento de los compuestos fenólicos de cada una de las legumbres estudiadas. Asimismo, el comportamiento de estos compuestos una vez que las harinas de leguminosas han sido tratados térmicamente (R+C y R+C+D), no ha sido estudiado en la literatura previa sobre legumbres, lo que proporcionará una información interesante para la utilización de harinas cocidas liofilizadas o bien deshidratadas, dependiendo de su mayor o menor contenido fenólico.

El estudio de la composición fenólica se realizó por HPLC-PAD en las muestras de legumbres crudas y procesadas. En las Tablas 21, 22, 23, 24 y 25, se muestra la concentración de los distintos compuestos identificados agrupados según su estructura química (ácidos hidroxibenzoicos, hidroxicinámicos, catequinas y procianidinas, isoflavonas, flavonoles, flavonas, flavanonas y dihidroflavonoles)

para lograr una mejor comprensión de los resultados. En las muestras analizadas se detectó una amplia variedad de compuestos fenólicos, mayoritariamente: ácidos salicílico, *p*-hidroxifenilacético, vainillínico, protocatéquico, *p*-hidroxibenzoico, *p*-cumárico *trans*, *p*-cumárico *cis*, ferúlico *trans*, ferúlico *cis* y cafeico, y derivados de estos ácidos; flavonoles, glicósidos y derivados de miricetina, quercetina y kaempferol; flavonas, glicósidos de apigenina y luteolina; isoflavonas, derivados de genisteína, daidzeína, y biochanin; flavanonas, derivados de naringenina, pinocembrin y eriodictiol; los flavanoles, (+)-catequina, (-)-equiccatequina, y procianidinas dímeras. Cabe destacar que no todos los compuestos citados están presentes en todas las muestras analizadas.

Garbanzos Sinaloa y Castellano

El estudio de la composición fenólica en los garbanzos resulta difícil, no solamente por la compleja composición de la matriz que dificulta la extracción de los compuestos, sino también por la baja concentración en que se encuentran algunos de ellos. La concentración de estos compuestos en las muestras de garbanzos se muestra en las Tablas 21 y 22 y los cromatogramas correspondientes de las muestras crudas y deshidratadas de ambos garbanzos en las Figuras 19 y 20.

Hidroxibenzoicos. Los compuestos hidroxibenzoicos, son un grupo de compuestos fenólicos minoritario en garbanzos (9,5-20% del total de estos compuestos). El garbanzo Castellano presenta una mayor concentración que el garbanzo Sinaloa en muestras crudas, siendo el ácido *p*-hidroxibenzoico el principal compuesto en ambas legumbres (13,39 y 6,01 µg/g en Castellano y Sinaloa, respectivamente). En los vegetales los compuestos hidroxibenzoicos normalmente se encuentran en forma libre, contrariamente a lo que ocurre con los compuestos hidroxicinámicos y los flavonoides, que suelen encontrarse combinados con otros ácidos orgánicos, azúcares, proteínas, etc..., (Molgaard y Ravan, 1988).

Tabla 21. Concentración de los compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) en el garbanzo Sinaloa.

Compuestos Fenólicos ($\mu\text{g/g}$)	Cr	R	R+C	R+C+D
<i>Hidroxibenzoicos</i>				
Glucósido del ácido <i>p</i> -droxibenzoico	0,04	4,11	46,15	0,71
Derivado del ácido gentísico	n.d.	n.d.	5,77	2,06
Acido dihidroxibenzoico	0,44	0,35	3,50	0,78
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	6,01	1,88	1,77	2,12
Aldehido <i>p</i> -hidroxibenzoico	0,57	0,63	n.d.	0,94
Σ hidroxibenzoicos	7,06	6,97	57,18	6,61
<i>Hidroxicinmánicos</i>				
Acido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i>	0,10	0,29	0,10	0,07
<i>Procianidinas</i>				
Procianidina 1	8,77	t	18,99	3,08
Procianidina 2	4,19	3,81	3,29	0,42
Σ procianidinas	12,95	3,81	22,27	3,50
<i>Flavonoles</i>				
Quercetina rutinósido	0,52	n.d.	n.d.	n.d.
Derivado kaempferol 1	n.d.	2,29	0,67	0,46
Derivado kaempferol 2	n.d.	n.d.	2,22	1,78
Kaempferol rutinósido	0,60	0,36	0,56	0,54
Quercetina glucósido	0,71	0,75	n.d.	1,30
Kaempferol glucósido	n.d.	n.d.	0,68	n.d.
Derivado kaempferol 3	n.d.	n.d.	0,87	n.d.
Σ flavonoles	1,83	3,40	5,01	4,09
<i>Isoflavonas</i>				
Glucósido de biochanin B	6,60	0,81	1,93	1,63
Glucósido de biochanin B	22,09	15,91	n.d.	n.d.
Glucósido de biochanin A	10,26	7,43	n.d.	21,22
Glucósido de biochanin A	18,58	29,34	15,45	4,84
Biochanin B	n.d.	n.d.	10,40	8,21
Biochanin A	n.d.	18,32	28,14	23,58
Σ isoflavonas	57,53	71,81	55,92	59,48
<i>Otros Compuestos</i>				
Triptófano	1,20	3,23	4,75	n.d.
Derivado de triptófano	n.d.	n.d.	1,84	n.d.
Σ	1,20	3,23	6,59	n.d.
<i>Compuestos λ max 274 nm no identificados*</i>				
G1	1,01	0,87	3,89	6,34
G2	1,09	0,21	0,62	0,75
G3	6,96	5,76	8,75	7,69
G4	2,20	1,62	1,71	1,77
Σ	11,27	8,47	14,97	16,54

* Estos compuestos parecen pertenecer todos al mismo grupo, pero no se han podido identificar. n.d= no detectado; t = trazas.

Tabla 22. Concentración de los compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) en el garbanzo Castellano.

Compuestos Fenólicos ($\mu\text{g/g}$)	Cr	R	R+C	R+C+D
<i>Hidroxibenzoicos</i>				
Glucósido del ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	12,23	22,40	0,82	n.d.
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	13,39	4,44	4,99	4,12
Σ hidroxibenzoicos	25,62	26,85	5,81	4,12
<i>Hidroxicinnamicos</i>				
Acido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i>	n.d.	0,08	0,02	0,03
<i>Procianidinas</i>				
Procianidina	9,21	4,18	1,08	0,99
Procianidina	4,81	1,83	1,02	1,44
Σ procianidinas	14,02	6,02	2,10	2,43
<i>Flavonas y Flavanonas</i>				
Dimetoxi flavona	11,10	n.d.	n.d.	n.d.
Derivado pinocembrin	1,68	n.d.	n.d.	n.d.
Pinocembrin	1,37	1,17	0,35	4,84
Σ Flavanonas y Flavona	14,15	1,17	0,35	4,84
<i>Isoflavonas</i>				
Glucósido de genistéina	13,26	24,73	13,45	2,52
Glucósido de Biochanin A	15,11	12,54	6,18	3,67
Biochanin B	7,41	n.d.	n.d.	n.d.
Biochanin A	16,14	12,23	n.d.	n.d.
Σ isoflavonas	51,92	49,49	19,63	6,19
<i>Otros compuestos</i>				
Triptófano	3,09	19,20	4,18	0,38
Derivado de triptófano	8,31	6,84	1,90	5,58
Σ	11,40	26,04	6,08	5,95
<i>Compuestos λ max 274 nm no identificados*</i>				
G1	9,74	5,65	5,54	6,37
G2	0,76	0,68	0,29	1,24
G3	0,82	n.d.	n.d.	n.d.
G4	1,59	1,12	0,67	0,54
Σ	12,91	7,44	6,51	8,14

* Estos compuestos parecen pertenecer todos al mismo grupo, pero no se han podido identificar
n.d = no detectado.

Los ácidos hidroxibenzoicos son los más extendidos universalmente en angiospermas, y provienen sobre todo de la lignina de algunos tejidos por degradación enzimática (Sarkanen, 1971). También se han detectado derivados de hidroxibenzoicos en muestras de lupino crudas, donde la presencia de esta familia respecto al total de compuestos analizados resulta muy similar a la observada en el garbanzo Sinaloa (18% en lupino y 20% en el garbanzo Castellano) (Dueñas y col., 2009). A diferencia del proceso de remojo, donde apenas se observan variaciones en el contenido total de compuestos hidroxibenzoicos, durante la cocción se aprecia un comportamiento muy diferenciado según la variedad de garbanzo que estemos tratando. El garbanzo Sinaloa experimenta un notable incremento (aumentando ocho veces su valor inicial, Figura 21), debido principalmente a la formación de un glucósido del ácido *p*-hidroxibenzoico posiblemente como consecuencia de la degradación de lignina durante el tratamiento térmico (Dagley, 1971). Sin embargo, el garbanzo Castellano ve reducido su contenido de compuestos hidroxibenzoicos una vez sometida la muestra al proceso de cocción (78%, respecto el remojo), y sin variaciones significativas cuando ha sido deshidratado (Figura 22). No obstante, el garbanzo Sinaloa experimenta una reducción del 88% (respecto a la cocción) cuando se lleva a cabo el proceso de deshidratación, siendo el glucósido del ácido *p*-hidroxibenzoico, el mayor responsable de dicha disminución, con contenidos finales muy bajos (0,71 µg/g). Por lo tanto, a la vista de los resultados se pone de manifiesto que el comportamiento de este grupo de compuestos fenólicos durante el procesamiento industrial es diferente dependiendo de la variedad de garbanzo de que se trate.

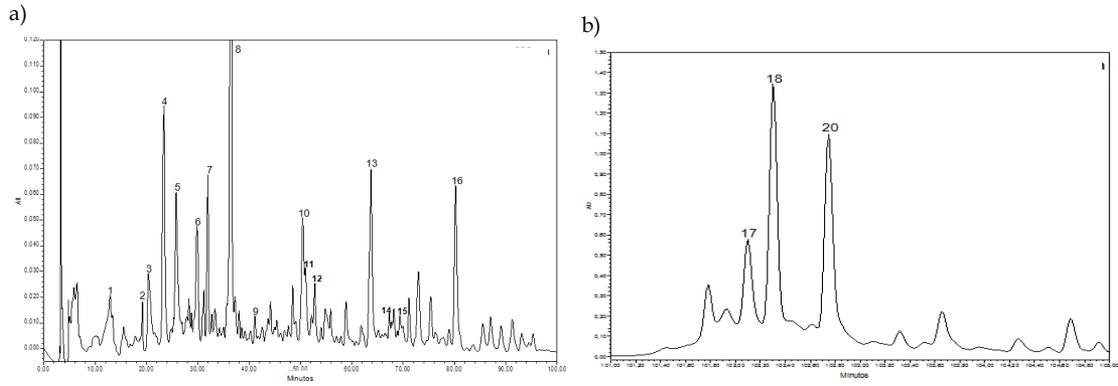
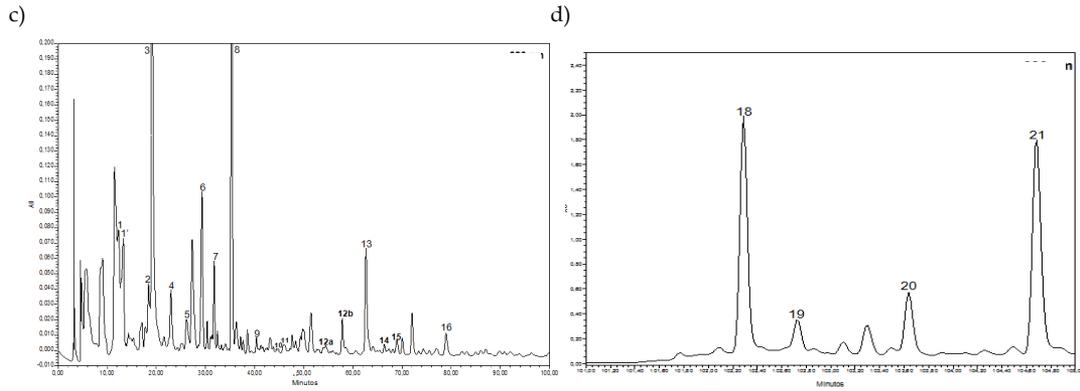


Figura 19. Cromatogramas del garbanzo Sinaloa crudo (a-b) y deshidratado (c-d)



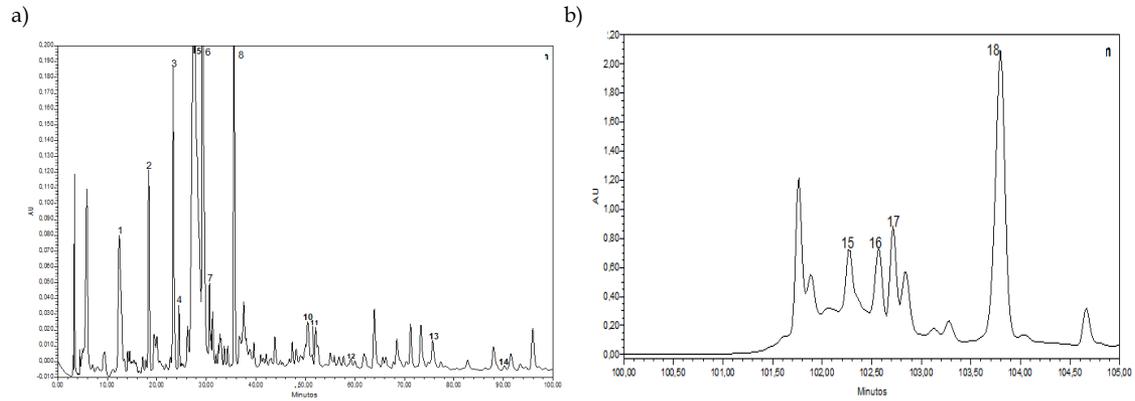
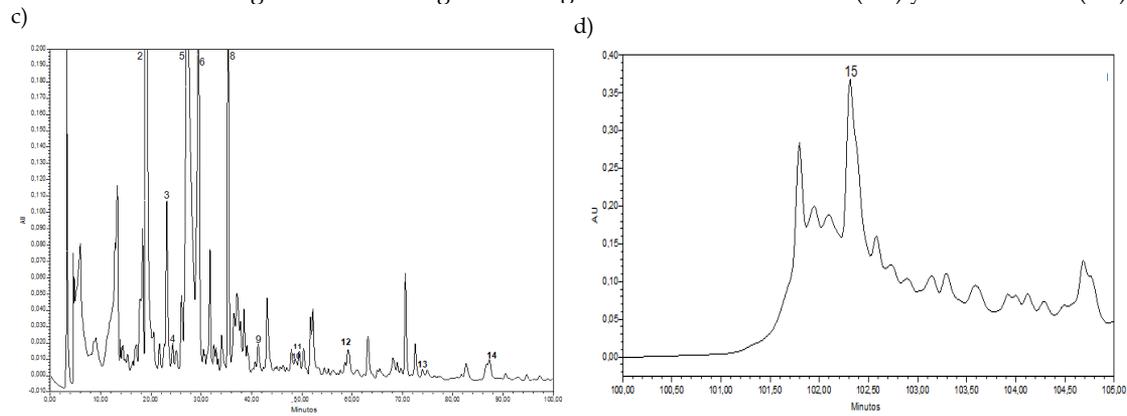


Figura 20. Cromatogramas del garbanzo Castellano crudo (a-b) y deshidratado (c-d)



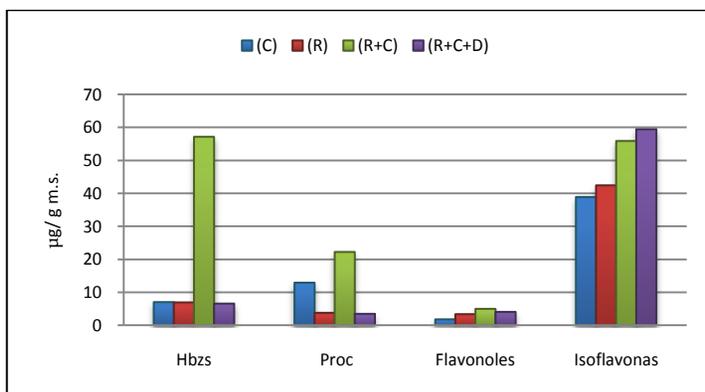


Figura 21. Variación del contenido de las principales familias de compuestos fenólicos en el garbanzo Sinaloa durante el proceso de deshidratación ($\mu\text{g/g m.s.}$). Hbzs= hidroxibenzoicos; Proc= procianidinas.

○ *Hidroxicinámicos*. Los compuestos hidroxicinámicos que forman parte de la pared celular, en varias cadenas y formas esterificadas, suelen estar unidos a ligninas y arabinosilanos (Ishii, 1994). Las concentraciones de estos compuestos detectados en los garbanzos Sinaloa y Castellano (Tablas 21 y 22) son muy bajas y similares en ambas variedades, por lo que se ha decidido omitir su representación gráfica ya que no proporcionaba una adecuada información visual. El único compuesto detectado en los garbanzos es un derivado del ácido *trans p*-cumárico, el cual durante la etapa de remojo alcanza las concentraciones más altas (0,29 y 0,08 $\mu\text{g/g}$ en el garbanzo Sinaloa y Castellano, respectivamente). Durante el remojo previo al proceso de cocción se facilita la absorción de agua por la semilla, lo que produce alteraciones en la permeabilidad de la membrana celular (Barceló y col., 1992). En relación a las etapas de cocción y deshidratación, se aprecian reducciones en torno al 70% en ambas variedades respecto a la etapa de remojo.

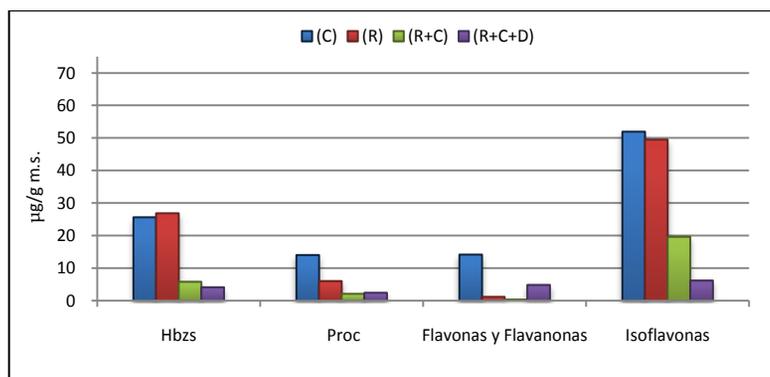


Figura 22. Variación del contenido de las principales familias de compuestos fenólicos en el garbanzo Castellano durante el proceso de deshidratación ($\mu\text{g/g m.s.}$). Hbzs= hidroxibenzoicos; Proc= procianidinas.

o *Procianidinas*. Estos compuestos, caracterizados por su gran capacidad antioxidante, constituyen un grupo minoritario en los garbanzos, representando un 18 y 11% en el garbanzo Sinaloa y Castellano, respectivamente, en relación al total de grupos estudiados. Es de destacar la ausencia de monómeros de flavan-3-ol, ya que solamente se ha detectado su forma polimerizada, procianidinas, en ambas variedades. La acusada disminución de procianidinas durante el remojo puede atribuirse a que en este periodo comienzan a activarse los diferentes sistemas enzimáticos, modificando la matriz inicial y haciendo más difícil la extracción de estos compuestos por los métodos utilizados (López-Amorós y col., 2000). Sin embargo, la concentración de procianidinas en la cocción difiere entre variedades (Figura 21 y 22), al observar un descenso de dichos polímeros en el garbanzo Castellano y un incremento notable en el garbanzo Sinaloa, llegando a valores de 22,27 $\mu\text{g/g}$, superiores incluso a los iniciales en la muestra cruda (72% de incremento). Por lo contrario, la deshidratación trae consigo reducciones del 73% (respecto a la muestra inicial) en el garbanzo Sinaloa, y apenas variación de su contenido respecto a la cocción en el garbanzo Castellano. Se puede concluir, por tanto, que ambos procesos inducen modificaciones diferentes según la variedad de garbanzo.

o *Flavonoles y Flavanonas*. Al igual que las procianidinas, los flavonoles representan un grupo minoritario y se han detectado solamente en el garbanzo Sinaloa (2%), como derivados de kaempferol (0,6 $\mu\text{g/g}$) y de quercetina (1,23 $\mu\text{g/g}$).

En el garbanzo Castellano destaca la dimetoxi flavona como compuesto mayoritario (11,10 µg/g) y el derivado de pinocembrin (1,68 µg/g) en la harina cruda, a pesar de que ambos compuestos no hayan sido detectados una vez que el garbanzo ha sido sometido a etapas de remojo, cocción y deshidratación. Un comportamiento diferente muestran el resto de componentes de los garbanzos analizados, como pinocembrin y derivados de kaempferol y quercetina, los cuales incrementan su contenido a lo largo del proceso, siendo el caso del garbanzo Sinaloa el más destacado, aunque sus niveles sigan siendo bajos, tanto en cocción como en deshidratación. Estos incrementos podrían estar influenciados por el procesado térmico al que se ven sometidas las legumbres, donde la temperatura es uno de los factores determinantes junto a otros factores endógenos (hormonas y nutrientes principalmente) que pueden influir en la actividad de la enzima responsable de la biosíntesis de compuestos flavonoideos (Wiermann, 1981).

○ *Isoflavonas*. Se trata de compuestos intrínsecos de las plantas que se encuentran en los vegetales como agliconas o como glucósidos, siendo bastante abundantes en la soja, aunque también se han encontrado en lupino y otras legumbres (Dueñas y col., 2009). Estos compuestos son importantes fitoestrógenos que ejercen efectos biológicos beneficiosos influyendo sobre los síntomas menopaúsicos, osteoporosis, sistema cardiovascular... (Mathers, 2002). La presencia de isoflavonas sólo se ha detectado en las muestras de garbanzos, y no en el resto de legumbres analizadas, lo que les confiere una propiedad interesante a la hora de ser utilizados como materia prima para la obtención de harinas. Asimismo, se trata del grupo fenólico mayoritario analizado, representando el 53 y 40% del total de compuestos fenólicos en el garbanzo Sinaloa y Castellano, respectivamente. Las formas glucosiladas aparecen en mayor proporción que las isoflavonas libres en ambas variedades de garbanzo, destacando los glucósidos de biochanin (57,53 µg/g) en el garbanzo Sinaloa, y los glucósidos de genisteína y biochanin en el garbanzo Castellano (13,26 y 15,11 µg/g, respectivamente). Tras la cocción y deshidratación, el garbanzo Sinaloa mantiene los mismos niveles que la muestra cruda (Figura 21). En cambio, el garbanzo Castellano no sigue este comportamiento, ya que experimenta una reducción del contenido de isoflavonas de manera gradual a lo largo del proceso de

remojo (5%), seguido de la cocción (33%) y más acentuado en la deshidratación (88%) (Figura 22).

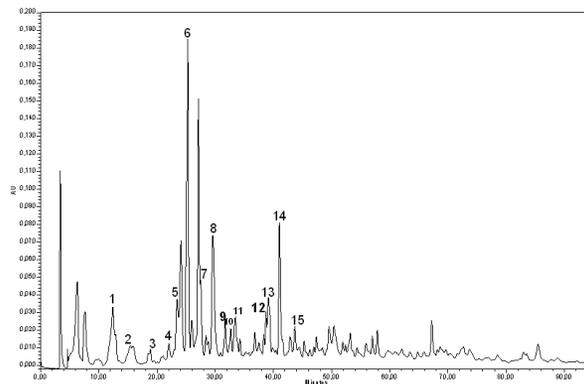
o *Otros Compuestos Identificados*. Asimismo, es preciso destacar la presencia de otros compuestos identificados en el análisis cromatográfico que representan el 17 y 19% del total en el garbanzo Sinaloa y Castellano, respectivamente. La influencia del procesamiento térmico sobre estos compuestos es importante, produciéndose una degradación de los mismos por efecto del calor, llegando a no ser detectados en el caso de las harinas deshidratadas del garbanzo Sinaloa. En relación a los compuestos no identificados que aparecen en λ_{\max} 274nm, no presentan un comportamiento generalizado sino que dependen de la variedad de garbanzo que se estudia, así en el caso del garbanzo Castellano se produce una reducción de los niveles de estos compuestos hasta un 37% en harinas sometidas al proceso de deshidratación, mientras que las harinas de garbanzo Sinaloa exhiben importantes aumentos tanto en harinas sometidas al proceso de cocción (33%) como al proceso de deshidratación (47%).

En conclusión y a la vista de los resultados obtenidos se deduce que a pesar de los bajos niveles de compuestos fenólicos que presentan los garbanzos, éstos muestran un comportamiento diferente según la variedad de que se trate, observándose una pérdida importante de los mismos en el garbanzo Castellano durante el proceso térmico (R+C, R+C+D), mientras que el garbanzo Sinaloa apenas hay cambios en la harina deshidratada.

Lenteja Pardina

La lenteja junto con la judía Pinta (semillas coloreadas) son las legumbres que ofrecen una mayor riqueza de compuestos fenólicos, lo que lleva a deducir que es en la testa coloreada donde se encuentran la mayoría de estos compuestos. Así lo establecieron Dueñas y col. (2003) en el estudio diferenciado en testa y cotiledón que desarrolló en distintas variedades de lenteja (Pardina y Castellana). Los cromatogramas obtenidos del análisis de la muestra de lenteja Pardina cruda y deshidratada se encuentran recogidos en la Figura 23 y las concentraciones de las distintas familias de compuestos fenólicos en la Tabla 23.

a)



b)

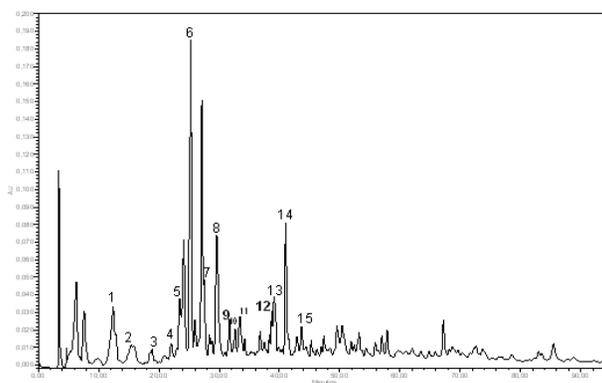


Figura 23. Cromatogramas de la lenteja Pardina cruda (a) y deshidratada (b)

o *Hidroxibenzoicos*. Estos compuestos son un grupo minoritario si lo comparamos con el resto de familias estudiadas (5%) y junto con los hidroxicinámicos, se encuentran en mayores concentraciones en el cotiledón de la lenteja que a la testa (Dueñas y col., 2002). El ácido *p*-hidroxibenzoico, a pesar de no mostrar un elevado contenido en la muestra cruda (3,68 µg/g), experimentó un notable ascenso una vez que la lenteja se remojó (39,2 µg/g). Este incremento, al igual que sucede en las muestras de legumbres anteriormente analizadas, podría ser debido a una oxidación enzimática durante el procesado, con la consecuente degradación de la lignina, dando lugar a la forma libre de los ácidos hidroxibenzoicos.

Tabla 23. Concentración de los compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) en la lenteja Pardina.

Compuesto Fenólico ($\mu\text{g/g}$)	Cr	R	R+C	R+C+D
<i>Hidroxibenzoicos</i>				
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	3,68	39,2	25,75	31,69
Ácido protocatéquico	n.d.	n.d.	0,48	n.d.
Glucósido del ácido vainillínico	0,04	n.d.	n.d.	n.d.
Derivado de ácido benzoico	n.d.	3,19	11,04	14,24
Aldehído protocatéquico	0,07	0,76	3,44	3,61
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	1,9	0,48	n.d.	0,64
Σ hidroxibenzoicos	5,69	43,63	40,71	50,18
<i>Hidroxicinámicos</i>				
Ácido <i>p</i> -cumaroil málico	0,66	n.d.	0,04	n.d.
Ácido <i>p</i> -cumaroil glicólico	0,42	n.d.	0,05	n.d.
Derivado del ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i>	0,12	n.d.	n.d.	0,73
Ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i>	2,14	0,3	0,58	0,36
Ácido <i>p</i> -cumárico <i>cis</i>	0,42	0,24	0,43	0,12
Σ hidroxicinámicos	3,76	0,54	1,1	1,21
<i>Catequinas y Procianidinas</i>				
Glucósido de (+) catequina	39,89	n.d.	1,84	1,86
(+) Catequina	n.d.	n.d.	5,1	1,64
Procianidina B2	8,92	n.d.	n.d.	n.d.
Glucósido de (-) epicatequina	n.d.	n.d.	5,6	4,09
(-) Epicatequina	n.d.	n.d.	0,68	1,04
Procianidina	9,3	n.d.	0,53	n.d.
Tetrámero de procianidina (tetrámero A)	1,81	n.d.	n.d.	n.d.
Procianidina	3,82	n.d.	n.d.	n.d.
Procianidina	0,93	n.d.	n.d.	n.d.
Procianidina	2,98	n.d.	n.d.	n.d.
Procianidina	4,45	n.d.	n.d.	n.d.
Σ catequinas y procianidinas	72,10	n.d.	13,75	8,63
<i>Flavonoles</i>				
Dihidrokaempferol	0,66	n.d.	n.d.	n.d.
Derivado de kaempferol 1	n.d.	0,67	1,47	0,49
Derivado de kaempferol 2	n.d.	0,44	0,57	n.d.
Derivado de kaempferol 3	2,01	n.d.	0,96	1,47
Derivado de kaempferol 4	3,06	1,21	n.d.	n.d.
Glucósido acilado de kaempferol 1	n.d.	n.d.	0,44	0,78
Miricetina ramnósido	1,83	0,5	0,54	n.d.
Glucósido acilado de kaempferol 2	1,63	0,51	0,73	0,83
Rutinósido de Kaempferol	5,00	1,23	0,58	1,53
Derivado de kaempferol 5	n.d.	n.d.	0,69	n.d.
Derivado de kaempferol 6	2,64	0,53	n.d.	0,43
Σ flavonoles	16,83	5,09	5,98	5,53

<i>Flavonas y Flavanonas</i>				
Apigenina metil-eter	0,15	0,65	n.d.	n.d.
Luteolina diglucosido	4,55	1,20	1,78	n.d.
Derivado de eriodictiol	n.d.	n.d.	0,17	n.d.
Eriodictiol	n.d.	0,16	0,20	n.d.
5,7-dimetoxi flavona	n.d.	0,24	0,06	0,50
Σ flavonas y flavanonas	4,7	2,25	2,21	0,50
<i>Otros Compuestos</i>				
Triptófano	0,91	1,68	1,99	2,86
Cis resveratrol	n.d.	n.d.	0,04	n.d.
Σ	0,91	1,68	2,03	2,86

* Estos compuestos parecen pertenecer todos al mismo grupo, pero no se han podido identificar
n.d = no detectado

Los compuestos derivados del ácido benzoico, y el aldehído protocatéuico apenas fueron detectados en la muestra cruda, pero sí en las muestras remojadas, cocidas y deshidratadas, mostrando un aumento gradual a medida que las etapas se iban sucediendo, llegando a alcanzar concentraciones de 14,24 y 3,61 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

El ácido protocatéuico presenta dos grupos hidroxilados en posición orto, lo que permite la formación de quinonas mediante acción enzimática; estos compuestos, a su vez, pueden interactuar con proteínas formando complejos difícilmente extraíbles para ser determinados analíticamente (López-Amorós y col., 2006). Por lo tanto, esto justificaría la difícil detección del ácido protocatéuico durante el procesado, observado únicamente durante la cocción. Asimismo, existen diversos estudios que hacen referencia al procesado de lentejas, tales como la fermentación (Bartolomé y col., 1997) y germinación (López-Amorós y col., 2006), donde también se han observado reducciones de estos compuestos, que podrían ser debidas a la reacción con hidroxiaácidos dando lugar a sus derivados.

Hidroxicinámicos. Respecto a los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados, puede destacarse que estos últimos compuestos, aparecen por lo general en menores concentraciones que la de los ácidos libres correspondientes, siendo únicamente detectado el derivado del ácido *trans p*-cumárico.

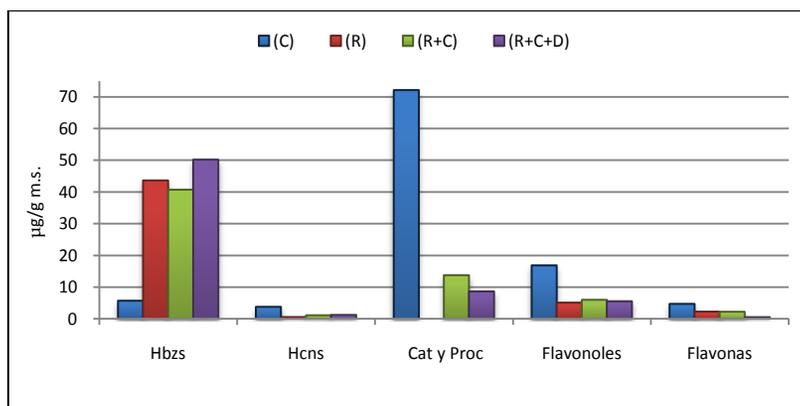


Figura 24. Variación del contenido de las principales familias de compuestos fenólicos en la lenteja Pardina durante el proceso de deshidratación ($\mu\text{g/g m.s.}$). Hbzs= hidroxibenzoicos; Hcns= hidroxicinámicos; Cat y Proc= catequinas y procianidinas.

La presencia de estos compuestos cinámicos principalmente en el cotiledón de la semilla puede ser debida a la existencia de los ácidos orgánicos o hidroxiácidos en el cotiledón, como gran reservorio de la mayoría de los macrocomponentes de la semilla, confirmándose la tendencia de los ácidos hidroxicinámicos a unirse con los hidroxiácidos, como generalmente se presentan en la naturaleza. Estos compuestos, presentes en una baja proporción en la muestra cruda (4%), a diferencia de los ácidos hidroxibenzoicos no ven aumentados sus contenidos durante el procesado, sino que tienden a reducir su presencia en la lenteja Pardina a lo largo del proceso. La reducción del contenido de compuestos hidroxicinámicos durante el remojo también ha sido observada en distintas legumbres como guisantes y judías junto con la reducción de otros componentes tales como carbohidratos y fitatos (Vidal-Valverde y Frias, 1992; López-Amorós y col., 2006). Sin embargo, el compuesto identificado como derivado del ácido *trans p*-cumárico experimenta un ligero incremento respecto la muestra cruda, como consecuencia de la degradación de su correspondiente ácido en forma libre.

- *Catequinas y Procianidinas*. Este grupo de compuestos es el mayoritario (67%) de los compuestos cuantificados, lo que se debe fundamentalmente a la elevada concentración en que se encuentra el glucósido de (+) catequina ($39,89 \mu\text{g/g}$). Estos resultados coinciden con lo determinado por otros autores, que encuentran la (+) catequina en altas concentraciones en las lentejas (Escarpa y González., 2001) o bien

el glucósido de (+) catequina como compuesto más abundante en lenteja Pardina (Dueñas y col., 2007a). No obstante, la testa de las lentejas contiene la práctica totalidad de los fenoles flavonoideos de la semilla y es una buena fuente de compuestos del tipo flavan-3-ol, tanto monómeros como oligómeros de procianidinas (Dueñas y col., 2002). Las prodelphininas, compuestos que se engloban dentro de las proantocianidinas, no han sido detectadas en lenteja Pardina en este estudio, sin embargo otros autores han determinado su presencia en muestras de lenteja Pardina crudas en elevadas proporciones (Dueñas y col., 2007a).

A pesar de que en la etapa de remojo no se observa la presencia de ningún de estos compuestos (Figura 24), después de la cocción y después de la deshidratación se han detectado pequeñas concentraciones de los monómeros (+) catequina y (-) epicatequina y sus glucósidos, debido posiblemente a la ruptura de oligómeros o polímeros de procianidinas. Estos resultados se asemejan a los descritos por López-Amorós y col. (2006) en lentejas germinadas, donde sólo observaban trazas de estos compuestos como consecuencia del proceso de germinación.

o *Flavonoles*. Los compuestos flavonoideos presentes principalmente en la cubierta de las lentejas, al igual que las procianidinas, muestran una gran actividad antioxidante, como consecuencia de la estructura que presentan (Jovanovic y col., 1994; Furhrman y Aviram, 2002;). Junto con las procianidinas son grupos abundantes en las lentejas (16% del total de grupos fenólicos analizados), siendo los derivados de kaempferol casi los únicos presentes en la muestra cruda (15 µg/g). Los resultados obtenidos en la literatura en muestras crudas de lentejas señalan cómo los glicósidos de kaempferol son los compuestos mayoritarios respecto al total de compuestos fenólicos (Escarpa y González., 2001). Cabe destacar la presencia de un ramnósido de miricetina en la lenteja Pardina (1,83 µg/g), detectada en mayores concentraciones (5,79 µg/g) en la misma variedad de lenteja por otros autores (Dueñas y col., 2007a), así como en más alta concentración (57.9 µg/g) en la testa de la misma variedad de lenteja (Dueñas y col., 2002). Una vez que las muestras han sido remojadas, se produce una acusada reducción de los flavonoles (70%). Sin embargo es importante resaltar la formación de algunos nuevos derivados de kaempferol en las últimas etapas del proceso, seguramente como consecuencia de interreacciones entre ellos, ya que estos compuestos pueden estar inicialmente

unidos a otras moléculas de naturaleza fenólica o no, y se liberen por acción de las enzimas formadas durante el procesado (López-Amorós, 2000).

○ *Flavonas y Flavanonas.* Dentro del grupo de las flavonas cabe destacar el diglucósido de luteolina como compuesto mayoritario (97% del total de compuestos analizados dentro del mismo grupo). Glicósidos de luteolina se han detectado anteriormente por otros autores en lupino y en lentejas de las variedades Castellana y Pardina, siendo esta última la que presentaba mayores niveles de los glicósidos de luteolina (Escarpa y González., 2001; Dueñas y col., 2002; 2006; 2009). Las flavanonas, como el eriodictiol y su derivado aparecen como consecuencia del procesado, en las etapas de remojo y cocción, aunque en concentraciones pequeñas de 0,16 y 0,24 µg/g, respectivamente. Un comportamiento similar ha sido observado durante la germinación de lupino, detectándose sólo en la muestra germinada (Dueñas y col., 2009). Sin embargo, la apigenina metil-éter ve aumentada cuatro veces su concentración después del remojo, aunque durante la cocción y deshidratación no se ha detectado. A pesar de no haber sido identificado ningún glucósido de apigenina en las muestras, en la literatura previa se ha citado la presencia de estos glucósidos en concentraciones apreciables en lenteja Pardina, que disminuyen su contenido cuando las lentejas se tratan con diversas enzimas (Dueñas y col., 2007a). La etapa de deshidratación provoca reducciones del 89% respecto a la muestra inicial, detectando tan sólo trazas de dimetoxi-flavona (0,5 µg/g) (Figura 24).

○ *Otros compuestos identificados.* Como ocurría en el estudio analítico de los compuestos fenólicos en garbanzos, se han identificado el triptófano y derivados que aparecen en muy bajos niveles en harinas crudas. Sin embargo, a lo largo del procesamiento térmico (R+C, R+C+D) aumentan dichos niveles, representando 3-4% del total de los compuestos identificados.

En resumen, la lenteja Pardina exhibe niveles muy destacados de compuestos fenólicos principalmente catequinas y procianidinas, seguidos de flavonoles, que a lo largo del proceso térmico industrial de deshidratación muestran un descenso muy acusado; por otra parte se observa un aumento de compuestos hidroxibenzoicos procedentes de la degradación térmica de la lignina.

Judías Cannellini y Pinta

Se han encontrado grandes diferencias entre las dos variedades de judías analizadas, siendo la judía Pinta la más rica en compuestos fenólicos (Figuras 25 y 26). En general, se ha observado una notable disminución de los compuestos fenólicos en las diferentes etapas del procesado, con un comportamiento bastante diferenciado entre las dos variedades de judías estudiadas.

o *Compuestos hidroxibenzoicos*. Es importante destacar el elevado contenido de estos compuestos en ambas variedades, representando un porcentaje similar respecto al contenido total de compuestos en la muestra, 20% en el caso de la judía Pinta y 31% en la judía Cannellini. En el caso de la judía Pinta (84,91 µg/g compuestos hidroxibenzoicos totales), este contenido se debe principalmente a la notable presencia de ácido salicílico (Tabla 25), que contribuye con más del 50% al contenido total de ácidos hidroxibenzoicos. El ácido vainillínico se muestra como el principal compuesto hidroxibenzoico en el caso de la judía Cannellini, también descrito en otras legumbres como lentejas y guisantes donde está presente en altas concentraciones (López-Amorós y col., 2006). El procesado de las muestras generalmente trae consigo una reducción gradual a medida que van sucediendo las distintas etapas, llegando incluso a no ser detectados en la etapa de deshidratación los compuestos que inicialmente se mostraban como mayoritarios (ácido salicílico y ácido vainillínico). Sin embargo, el ácido y el aldehído protocatéquico en la judía Pinta y el ácido *p*-hidroxibenzoico en la judía Cannellini han visto incrementado su contenido una vez sometidas las muestras a un proceso de deshidratación. Estos compuestos, como sucedía en las legumbres anteriormente estudiadas, podrían haberse formado a partir de la degradación de la lignina como consecuencia de una oxidación enzimática (Dagley, 1971).

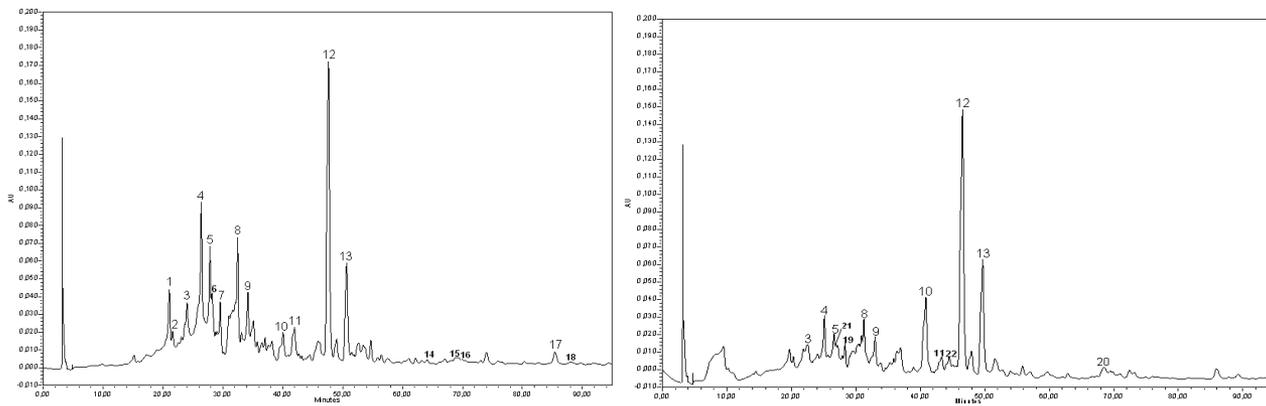


Figura 25. Cromatogramas de judía Cannellini cruda (a) y deshidratada (b)

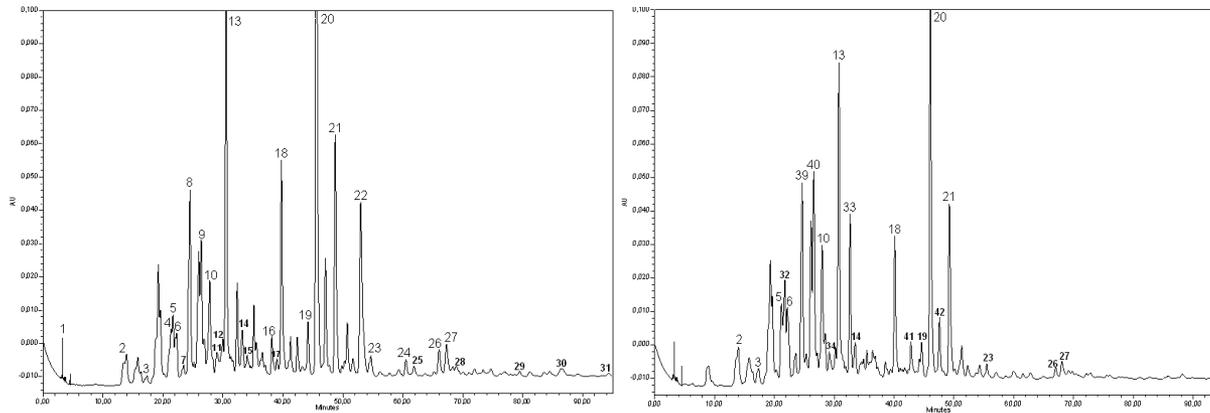


Figura 26. Cromatogramas de judía Pinta cruda (a) y deshidratada (b)

Tabla 24. Concentración de los compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) en la judía Cannellini.

Compuestos Fenólicos ($\mu\text{g/g}$)	Cr	R	R+C	R+C+D
<i>Hidroxibenzoicos</i>				
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	4,03	1,10	0,83	4,79
Ácido vainillínico	10,71	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido <i>p</i> -OH fenilacético	6,92	n.d.	n.d.	n.d.
Σ hidroxibenzoicos	21,66	1,10	0,83	4,79
<i>Hidroxicinámicos</i>				
Derivado ácido ferúlico <i>trans</i> 1	2,38	0,61	n.d.	n.d.
Derivado ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i> 1	0,13	0,17	n.d.	n.d.
Derivado ácido caféico	2,26	1,22	0,62	0,60
Derivado ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i> 2	0,37	0,24	0,66	0,19
Derivado ácido ferúlico <i>trans</i> 2	1,22	1,05	0,80	0,58
Derivado ácido caféico	1,12	n.d.	0,79	0,22
Derivado ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i> 3	0,95	0,38	1,87	1,85
Ácido ferúlico <i>trans</i>	8,95	5,17	9,38	8,61
Ácido ferúlico <i>cis</i>	6,14	4,62	8,71	7,57
Σ ácidos hidroxicinámicos	23,51	13,45	22,83	19,62
<i>Dihidroflavonoles</i>				
Dihidroquercetina	n.d.	0,70	2,67	0,89
<i>Flavanonas</i>				
Derivado naringenina 1	1,28	1,70	1,91	1,68
Naringenina-metil eter 1	0,98	n.d.	n.d.	n.d.
Derivado naringenina 2	n.d.	1,17	n.d.	n.d.
Naringenina-metil eter 2	1,59	6,74	0,92	n.d.
Derivado naringenina 3	2,01	0,47	n.d.	n.d.
Derivado naringenina 4	n.d.	1,91	n.d.	n.d.
Eriodictiol	1,20	1,72	n.d.	n.d.
Pinocembrin	n.d.	0,82	n.d.	n.d.
Σ flavanonas	7,05	14,53	2,82	1,68
<i>Otros compuestos</i>				
Derivado triptofol	2,27	1,53	1,16	1,80
Triptófano	n.d.	1,19	n.d.	n.d.
Derivado triptófano	n.d.	3,89	0,56	n.d.
Σ	2,27	6,61	1,72	1,80
<i>Compuestos λ max 274 nm no identificados*</i>				
1	11,77	5,61	14,81	13,55
2	3,48	0,67	2,65	2,13
Σ	15,25	6,27	17,46	15,68

* Estos compuestos parecen pertenecer todos al mismo grupo, pero no se han podido identificar
n.d = no detectado.

Tabla 25. Concentración de los compuestos fenólicos ($\mu\text{g/g}$) en la judía Pinta.

Compuestos Fenólicos ($\mu\text{g/g}$)	Cr	R	R+C	R+C+D
<i>Hidroxibenzoicos</i>				
Ácido protocatéquico	2,40	1,40	2,32	2,92
Aldehído protocatéquico	n.d.	0,29	0,53	1,19
Ácido <i>p</i> -hydroxybenzoico	12,20	5,49	7,27	8,32
Aldehído <i>p</i> -OH benzoico	n.d.	n.d.	n.d.	2,42
Ácido vainillínico	17,01	n.d.	n.d.	n.d.
Ácido <i>p</i> -OH fenilacético	8,42	5,78	2,17	2,27
Ácido salicílico	44,89	3,39	n.d.	n.d.
Σ hydroxybenzoics	84,91	16,34	12,29	17,12
<i>Hidroxicinámicos</i>				
Derivado del ácido ferúlico <i>trans</i> 1	3,31	2,32	2,19	n.d.
Ácido cafeico	1,94	1,36	1,14	2,12
Acido <i>p</i> -cumaroil <i>trans</i> málico	5,14	2,93	1,70	2,64
Derivado ácido <i>p</i> -cumárico <i>trans</i> 2	2,09	2,25	1,73	1,87
Ácido ferúlico <i>trans</i>	11,80	14,66	8,02	8,92
Derivado ácido ferúlico <i>cis</i>	10,45	11,50	8,24	n.d.
Ácido ferúlico <i>cis</i>	1,58	1,49	2,16	4,10
Σ hidroxicinámicos	36,30	36,51	25,18	19,65
<i>Catequinas y procianidinas</i>				
Glucósido de (+) catequina	45,75	1,46	n.d.	n.d.
Dímero Procianidina 1	41,20	3,54	4,92	n.d.
(+) Catequina	142,58	22,06	76,25	n.d.
Dímero de procianidina 2	17,45	n.d.	n.d.	n.d.
Trímero de procianidina	9,96	11,06	3,52	n.d.
Σ catequinas y procianidinas	256,93	38,11	84,68	n.d.
<i>Flavonoles y dihidroflavonoles</i>				
Dihidroquercetina	n.d.	n.d.	2,41	2,26
Glicósido de quercetina 1	1,91	n.d.	1,98	2,46
Glicósido acilado de quercetina	2,39	2,69	n.d.	n.d.
Glicósido de kaempferol	3,13	n.d.	n.d.	n.d.
Glicósido de quercetina 2	7,15	4,12	2,96	2,31
Σ flavonoles y dihidroflavonoles	14,58	6,81	7,35	7,04
<i>Flavanonas</i>				
Derivado de naringenina 1	4,49	4,24	1,43	1,25
Derivado de naringenina 2	1,29	n.d.	n.d.	n.d.
Eriodictiol	3,83	2,91	1,69	n.d.
Pinocembrin	1,26	1,29	1,29	n.d.
Σ flavonas y flavanonas	10,87	8,44	4,41	1,25
<i>Otros compuestos</i>				
L-tirosina	0,09	0,08	0,06	0,08
6,7-dihidroxi-4-metil cumarina	0,37	n.d.	n.d.	n.d.

Triptofol	3,27	3,35	1,98	2,39
Σ	3,73	3,43	2,04	2,47
<i>Compuestos λ max 274 nm no identificados*</i>				
1	n.d.	n.d.	21,47	n.d.
2	5,46	6,26	2,29	n.d.
Σ	5,46	6,26	23,76	n.d.

* Estos compuestos parecen pertenecer todos al mismo grupo, pero no se han podido identificar
n.d = no detectado

o *Compuestos hidroxicinámicos*. Estos compuestos, en el caso de la judía Cannellini, constituyen el grupo mayoritario respecto al total de grupos analizados (34%), donde destaca la presencia de los isómeros *trans*- y *cis* del ácido ferúlico (Tabla 24) como compuestos mayoritarios. Similares contenidos de ácido *trans*-ferúlico junto con el derivado de ácido *cis*-ferúlico aparecen en la judía Pinta (11,8 y 10,45 $\mu\text{g/g}$, respectivamente). Estos resultados concuerdan con un estudio realizado en 15 variedades de judías, donde resaltaban el alto contenido de ácido ferúlico como compuesto mayoritario y la baja presencia de ácido cafeico, que se encontraba en trazas (Luthria y Pastor-Corrales, 2006). Asimismo, las variedades de judías Cannellini y Pinta muestran concentraciones muy superiores a las recogidas por otros autores en la variedad de judías La Granja (López-Amorós y col., 2006). Los compuestos derivados de los ácidos *trans-p*-cumárico o *trans*-ferúlico conjugados con ácidos orgánicos, se detectaron en la testa y el cotiledón de guisantes crudos y en el cotiledón de lentejas (Dueñas y col., 2002; Dueñas y col., 2004). La presencia de ácido málico, formando ésteres con los ácidos fenólicos libres, en este caso con el *trans-p*-cumárico en la judía Pinta, puede tener relación con la presencia de este ácido descrito como mayoritario en hojas y tallos de algunas leguminosas, teniendo un papel importante en la regulación del pH (Li y Copeland., 2000). Una vez que las muestras son sometidas a una etapa de remojo, se observa cómo los compuestos hidroxicinámicos experimentan una reducción en el caso de la judía blanca Cannellini (17%) (Figura 27), sin embargo, la judía Pinta apenas muestra variaciones significativas (Figura 28). El análisis de los componentes fenólicos en el agua de remojo llevado a cabo en dos variedades de judías, reveló el bajo contenido de los compuestos encontrados (<2%) (Luthria y Pastor-Corrales, 2006). En lo que refiere a la cocción, se observa que este proceso afecta de forma diferente a ambas judías,

produciendo aumento de ácidos hidroxicinámicos en el caso de la judía Cannellini, respecto el remojo, como consecuencia del acusado incremento de los ácidos *cis*- y *trans*- ferúlicos (81% y 88%, respectivamente), y una reducción en la judía Pinta. Sin embargo, otros autores sólo observan reducciones del 17-1% durante la cocción en judías de las variedades Pinta y Matterhorn, atribuyendo dichas pérdidas parciales a la posible oxidación de los compuestos fenólicos o a su transformación en compuestos más complejos no detectados por los procedimientos de HPLC utilizados (Luthria y Pastor-Corrales, 2006). Tras la etapa de deshidratación, se observa la destacable reducción que ha tenido lugar durante todo el proceso (respecto a la harina cruda), mostrando una disminución del 16% en el caso de la judía Cannellini, siendo más acusada en la judía Pinta 46%.

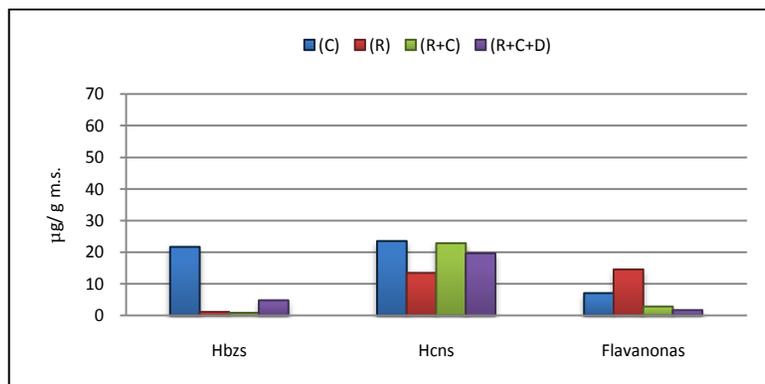


Figura 27. Variación del contenido de las principales familias de compuestos fenólicos en la judía Cannellini durante el proceso de deshidratación (µg/g m.s.). Hbzs= hidroxibenzoicos; Hcns= hidroxicinámicos.

o *Catequinas y procianidinas*. Cabe destacar que las diferentes coloraciones que presentan algunas semillas de legumbres, indican la presencia o ausencia de ciertos compuestos fenólicos, principalmente proantocianidinas y antocianos, lo cual podría explicar la ausencia de estos compuestos en la judía Cannellini, como observaron López-Amorós y col. (2006) en judías blancas de la variedad La Granja. Sin embargo, Escarpa y González (2001) determinaron la presencia de proantocianidinas en judías blancas crudas como compuestos mayoritarios respecto al total de compuestos fenólicos analizados. Los flavan-3-oles en sus diferentes

formas, monómeros, dímeros o trímeros son los que se encuentran en mayor concentración en la judía Pinta, representando un 62% del total de grupos de compuestos fenólicos analizados (Figura 28). Asimismo, los monómeros de flavan-3-ol, tales como (+) catequina (142,58 µg/g) y su glucósido (45,75 µg/g) son los compuestos mayoritarios dentro de este grupo, aunque el dímero de procianidina también se encuentra en elevadas concentraciones. Estos elevados contenidos de catequinas y en menor proporción de procianidinas, hace que las judías Pintas puedan ser consideradas una fuente destacada de compuestos del tipo flavan-3-ol, compuestos a los que se atribuye una gran capacidad antioxidante y, por tanto, importantes desde un punto de vista farmacológico. Durante el remojo, se aprecia una acusada reducción de las catequinas (85%) y procianidinas (79%), que en la cocción y sobre todo en la deshidratación, es más drástica, llegando a no ser detectados después de la deshidratación. Sin embargo, la (+) catequina experimenta un aumento en su contenido durante la cocción (respecto a la etapa de remojo), que podría ser atribuido a la degradación de polímeros de procianidina en unidades sencillas (Buchner y col., 2006).

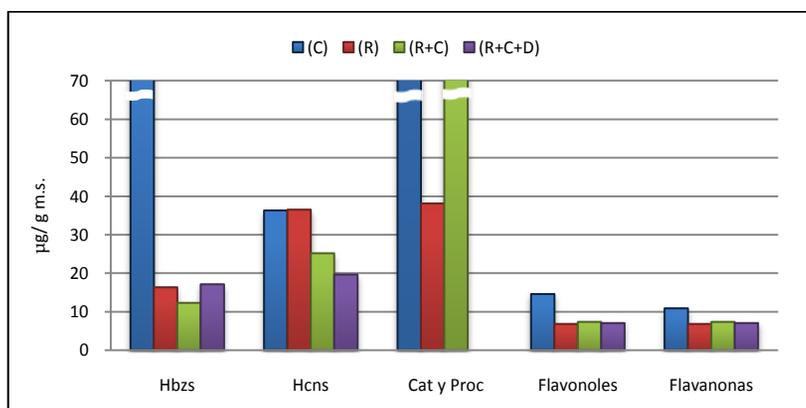


Figura 28. Variación del contenido de las principales familias de compuestos fenólicos en la judía Pinta durante el proceso de deshidratación (µg/g m.s.).

Hbzs= hidroxibenzoicos; Hcns= hidroxicinámicos; Cat y Proc= catequinas y procianidinas.

o *Flavonoles y dihidroflavonoles*. Es importante destacar la presencia de glucósidos de flavonoles (quercetina y kaempferol) y de un dihidroflavonol (dihidroquercetina) en judía Pinta (Figura 28), aunque en la judía Cannellini solamente se ha detectado la dihidroquercetina; este último compuesto debido a su

baja concentración no ha sido representado gráficamente en ninguna de las dos variedades. Díaz-Batalla y col. (2006) detectaron la presencia de quercetina y kaempferol en forma libre en judías comunes en elevadas concentraciones (6,9-209,4 µg/g); y sus formas glucosiladas como mayoritarios en judías de procedencia italiana según detalla Dinelli y col. (2006). Asimismo, varios glicósidos de flavonoles han sido descritos como componentes de los tejidos externos de las semillas de leguminosas (Dueñas y col., 2002, 2004). En muestras crudas, la mayor concentración de flavonoles correspondió al glicósido de quercetina 2 (7,15 µg/g), que a diferencia del glicósido de quercetina 1, ve disminuido su contenido a lo largo del procesado, mientras que el glicósido 1 experimenta un ligero incremento en la etapa de deshidratación. Similar comportamiento presenta la dihidroquercetina, dihidroflavonol que solamente ha sido detectado en las muestras que han sido sometidas a un proceso de cocción o deshidratación. Los incrementos que exhiben los dihidroflavonoles han sido observados en literatura previa durante el proceso de germinación en lupino (Dueñas y col., 2009).

○ *Flavanonas*. En las muestras de judías crudas el contenido de flavanonas es muy bajo (10% y 3% en judía Cannellini y judía Pinta, respectivamente) (Figura 27 y 28). Sin embargo, cuando las muestras son sometidas a un proceso de remojo, se observa en la judía Cannellini un incremento del 106%, debido a que el contenido de naringenina-metil eter 2, que aumenta cuatro veces; sin embargo la presencia de estos compuestos se ve reducida en la cocción y deshidratación, excepto en el derivado de naringenina 1, en la judía Cannellini (1,91 µg/g). También cabe destacar la presencia de eriodictiol y pinoembrin en bajas proporciones en ambas judías; este último compuesto es característico del propóleo al que se le ha atribuido propiedades antioxidantes, antibacteriana y antiinflamatorias (Gao y col., 2008). Existen pocas variaciones respecto al contenido de compuestos fenólicos si comparamos las dos últimas etapas del procesado (cocción y deshidratación), produciéndose una reducción del 76% en judía Cannellini y 52% en Pinta respecto a la muestra cruda.

○ *Otros compuestos*. En la judía Pinta se han identificado otros compuestos minoritarios, como son L-tirosina y una cumarina, pero también se ha detectado la presencia de triptofol, que representa un 88% del total de este grupo de compuestos.

A lo largo del procesado, estos compuestos ven reducida su presencia un 34% respecto a la muestra cruda como consecuencia del tratamiento térmico.

En relación a los compuestos no identificados que aparecen en λ_{\max} 274 nm en la judía Pinta y en la judía Cannellini, presentan un comportamiento similar durante la cocción, donde ambas legumbres ven incrementado su contenido, a diferencia de la etapa de deshidratación, donde en la judía Pinta no se detecta ningún compuesto de este grupo y en la judía Cannellini aumenta su concentración respecto a la harina cruda.

Como cabría esperar, son grandes las diferencias cuantitativas observadas en la composición fenólica entre las variedades de judía estudiadas. Estas diferencias podrían ser atribuidas a diferentes factores tales como el genotipo (cultivo o variedad), prácticas agronómicas (irrigación, fertilización, pesticidas), maduración y cosecha, almacenamiento y condiciones climáticas (Dixon y Paiva, 1995; Ninfali y Bacchiocca, 2003). A la vista de los resultados obtenidos se puede concluir que el tratamiento térmico (R+C, R+C+D) promueve descensos muy importantes en todos y en cada uno de los grupos de compuestos fenólicos estudiados, siendo más acentuados cuando se lleva a cabo el proceso de deshidratación.

Actividad antioxidante

Los compuestos fenólicos por sus características estructurales, tienen la facilidad de captar radicales libres, propiedad que les aporta actividad antioxidante. Los valores de ORAC (actividad antioxidante) de las legumbres crudas y procesadas durante cada una de las etapas del proceso se reflejan en la Tabla 26. Los datos de ORAC en las legumbres crudas estudiadas oscilan entre 16,38 $\mu\text{mol TE/g}$ (garbanzo Sinaloa) y 96,23 $\mu\text{mol TE/g}$ (judía Pinta). El garbanzo es la legumbre menos estudiada y de la que se tiene una menor información acerca de la capacidad antioxidante, como consecuencia de los bajos valores de ORAC que presenta (16,38 y 27,77 $\mu\text{mol TE/g}$ en el garbanzo Sinaloa y Castellano, respectivamente) (Figura 29). La lenteja Pardina, al igual que la judía Pinta, posee una gran capacidad antioxidante como consecuencia de la alta presencia de procianidina B₂ (dímero de procianidina) y tetrámeros de procianidina presentes en su composición fenólica.

Tabla 26. Influencia del procesado en las harinas de leguminosas sobre los valores de ORAC ($\mu\text{mol Trolox eq/g m.s.}$).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	16,38 \pm 0,70 ^b	27,77 \pm 2,40 ^d	66,97 \pm 4,90 ^c	38,33 \pm 2,60 ^c	96,23 \pm 8,20 ^c
R	13,65 \pm 1,00 ^a	18,55 \pm 1,40 ^c	17,36 \pm 1,60 ^a	33,00 \pm 2,80 ^c	55,20 \pm 1,10 ^b
R+C	16,73 \pm 0,20 ^b	14,07 \pm 0,30 ^a	24,73 \pm 1,30 ^b	24,47 \pm 1,60 ^b	39,13 \pm 3,50 ^a
R+C+D	16,20 \pm 1,40 ^b	15,93 \pm 1,00 ^b	20,95 \pm 2,10 ^a	20,20 \pm 0,50 ^a	39,07 \pm 2,80 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio \pm Desviación Estándar ($n = 6$). n.d.= no detectado.

La capacidad antioxidante de las procianidinas aumenta con su grado de polimerización, mostrando una mayor actividad los trímeros que los dímeros o monómeros (Lotito y col., 2000; Dueñas y col., 2003). Dueñas y col., (2006) estudiaron la capacidad antioxidante presente en la testa y cotiledón de lentejas, y observaron que dicha capacidad se debía principalmente a los compuestos flavonoideos, que se encontraban mayoritariamente en la testa de la lenteja. No obstante, la variedad de lenteja estudiada es otro factor que va a influir en los valores obtenidos de ORAC; así lo reflejan distintos autores al estudiar esta capacidad en distintas variedades de lentejas, obteniendo valores comprendidos entre 59,55 y 95,20 $\mu\text{mol TE/g}$ (Xu y Chang, 2007; Halvorsen y col., 2002). Respecto a las judías, observamos valores de ORAC inferiores en el caso de la judía Cannellini (38,33 $\mu\text{mol TE/g}$) respecto a los de la judía Pinta (Figura 29), como consecuencia de la baja presencia de proantocianidinas. Teniendo en cuenta la gran actividad antioxidante que se le atribuye a las proantocianidinas y a los flavonoles y flavonas, los resultados obtenidos de capacidad antioxidante en la judía Pinta podrían deberse a las altas concentraciones que presentan estos grupos de compuestos, mostrando por lo tanto una mayor capacidad de captación de radicales libres respecto al resto de legumbres estudiadas. La alta correlación de estos grupos con la actividad antioxidante que poseen podría estar relacionada con la estructura que presentan estos compuestos (Jovanovic y col., 1998; Fuhrman y Aviram, 2002). Además existen ciertos flavonoles como el kaempferol y sus formas conjugadas a

los que se les ha atribuido cierto carácter anticancerígeno (Di Carlo y col., 1999). La gran variabilidad de la capacidad antioxidante que se refleja entre las judías ha sido estudiada por Xu y Chang, (2007), que analizaron siete variedades de judías obteniendo valores extremos de ORAC comprendidos entre 13,30-92,73 $\mu\text{mol TE/g}$.

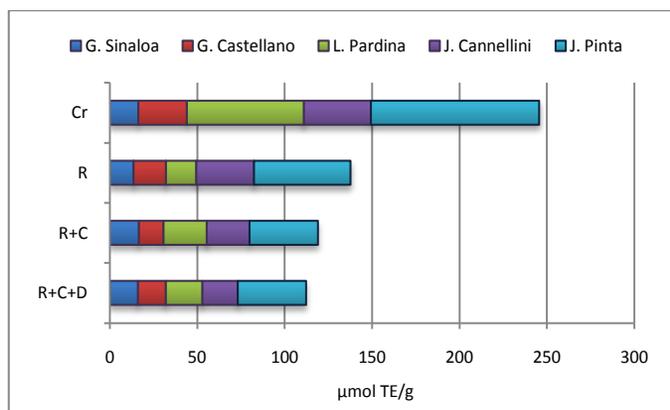


Figura 29. Capacidad antioxidante de las leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Una vez que las leguminosas son sometidas a una etapa de remojo (R), se observan reducciones significativas, superando en la lenteja Pardina y la judía Pinta el 40% de disminución de la capacidad antioxidante (Figura 29). En el caso de los garbanzos las reducciones más acusadas las experimenta el garbanzo Castellano (33%), mientras que en el Sinaloa estas reducciones son menos acusadas (16%). Este comportamiento podría estar atribuido a la drástica reducción que experimentan las isoflavonas en el garbanzo Castellano durante el remojo (88%) a diferencia del Sinaloa, que ve incrementado ligeramente su contenido. No obstante, en ambas variedades de garbanzo, el descenso de la capacidad antioxidante está directamente relacionado con la disminución que se produce en el contenido de procianidinas (73-83%). Respecto a la lenteja Pardina, la reducción tan acusada podría ser atribuida a la eliminación total de las catequinas y procianidinas, que no fueron detectadas durante el remojo y a la escasa presencia de flavonoles (5,09 $\mu\text{mol TE/g}$). El mismo comportamiento experimenta la judía Pinta, donde se observan reducciones hasta de un 85% en las catequinas y procianidinas (proantocianidinas). Reducciones similares se han encontrado en la literatura en judías, guisantes y

lentejas después de la germinación, produciéndose en estas últimas una eliminación de procianidinas B₂, B₃ y C₁ y de tetrámeros de procianidinas (López-Amorós, 2006). Respecto a la cocción (R+C), se refleja importantes reducciones (49% en el garbanzo Castellano, 63% en la lenteja Pardina, 36% en la judía Cannellini y 59% en la judía Pinta), excepto en el garbanzo Sinaloa que mantiene prácticamente los mismos valores iniciales (Figura 29). Los cambios de la capacidad antioxidante experimentados durante la cocción podrían ser atribuidos principalmente a dos factores, uno de ellos, la lixiviación de compuestos fenólicos al agua de cocción; y el otro, la degradación o formación de nuevos compuestos (no sólo compuestos fenólicos). En la bibliografía se han encontrado reducciones menores durante un proceso de cocción bajo presión atmosférica, en el caso de la lenteja (11-16% de reducción) y de la judía pinta (30-43%) (Xu y Chang, 2008a, 2008b). Sin embargo, existen en la literatura artículos donde se describen aumentos de la capacidad antioxidante durante el procesado en frutas y hortalizas, debido probablemente a la formación de compuestos con mayores propiedades antioxidantes o a la formación de productos de Maillard, los cuales poseen actividad antioxidante (Manzocco y col., 2001). Asimismo, si comparamos los valores de ORAC después de la cocción con los resultados durante el remojo, observamos un ligero aumento en el caso del garbanzo Sinaloa y la lenteja Pardina, como consecuencia de un incremento en el contenido de proantocianidinas.

En lo que concierne a los valores obtenidos para la capacidad antioxidante (ORAC) después de un proceso de deshidratación (R+C+D), se pone de manifiesto una acusada reducción de la actividad de captación de radicales libres, respecto a las muestras crudas, en el caso de la lenteja Pardina (68%) y la judía Pinta (59%), siendo menos destacada en la judía Cannellini y el garbanzo Castellano (47 y 42%, respectivamente) y casi inapreciable en el garbanzo Sinaloa (1%) (Figura 29). En general, la baja capacidad antioxidante que exhiben todas las muestras de legumbres deshidratadas es como consecuencia de la escasa presencia de los grupos de compuestos a los que se les atribuye una mayor capacidad, como son las proantocianidinas, flavonoles y flavonas. Sin embargo, a pesar de la acentuada reducción de la actividad antioxidante en la judía Pinta, esta legumbre sigue siendo la que presenta mayores valores de ORAC (duplicando los valores del resto de

leguminosas estudiadas) una vez ha sido procesada. Estas variaciones se corresponden con el comportamiento observado en la fracción fenólica. Existe escasa bibliografía en lo que respecta al estudio de la capacidad antioxidante en muestras de legumbres deshidratadas, por lo que este estudio aporta interesantes resultados en el campo de aplicación de harinas de leguminosas, al poseer una mayor capacidad de captación de radicales libres aquellas harinas cocidas liofilizadas frente a las harinas cocidas deshidratadas. Por tanto, el proceso de liofilización podría ser más ventajoso frente a la deshidratación desde el punto de vista de la actividad antioxidante de dichas harinas.

Análisis de Correlación entre Compuestos Fenólicos y la Capacidad Antioxidante

Para determinar la relación existente entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en las muestras procesadas de leguminosas, se ha realizado un análisis de regresión lineal entre los valores de la capacidad antioxidante y las familias de compuestos fenólicos ($n = 7$). Se observa una correlación significativa entre la capacidad antioxidante y los polifenoles totales ($r = 0,86$ $P < 0,05$), entre ORAC y proantocianidinas ($r = 0,72$ $P < 0,05$) y entre ORAC y catequinas ($r = 0,82$ $P < 0,05$), lo que nos indica que la actividad antioxidante que presentan las legumbres está directamente relacionada mayoritariamente con el contenido de estos compuestos fenólicos. Además, de forma general, las muestras con mayor capacidad antioxidante son las que presentan el contenido fenólico más alto. No obstante, cabe destacar la existencia de otros compuestos no fenólicos a los que se les atribuyen actividad antioxidante, tales como ácido fólico, vitaminas antioxidantes, carotenoides, etc..., (Sies y col., 1992; Prodanov y col., 1998; Atienza y col., 1999). Estos compuestos pueden ejercer un efecto sinérgico entre ellos y con los compuestos fenólicos, los cuales podrían ser los responsables de las diferencias observadas en la capacidad antioxidantes de las leguminosas estudiadas.

Asimismo, se han establecido distintas correlaciones entre la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos pormenorizados más destacados. En el caso de los garbanzos, es el Castellano el que presenta una mayor correlación del ORAC con los distintos grupos de compuestos fenólicos, siendo las procianidinas ($r = 0,98$ $P < 0,01$) y los compuestos hidroxicinámicos ($r = 0,92$ $P < 0,01$) los grupos de mayor influencia

sobre la capacidad antioxidante. Sin embargo, el garbanzo Sinaloa a pesar de presentar una mayor variedad de compuestos fenólicos respecto al garbanzo Castellano, éstos no establecen una gran correlación con el ORAC, siendo las procianidinas la familia con mayor influencia ($r = 0,64$ $P > 0,10$).

En lo que se refiere a la lenteja Pardina, se observa que posee gran número de compuestos fenólicos, destacando los dímeros y trímeros de procianidina a los que se les atribuye una gran capacidad para captar radicales libres. Sin embargo, no se ha podido establecer una correlación entre estos grupos y los resultados de ORAC, puesto que sólo están presentes en la muestra cruda. No obstante, las flavonas y flavonoles, compuestos flavonoideos con propiedad antioxidante, presentes en las muestras de lenteja, tienen también una gran influencia sobre la capacidad antioxidante, principalmente los flavonoles ($r = 0,99$ $P < 0,01$). Otros compuestos no flavonoideos como los hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos también establecen notables correlaciones ($r = 0,97$ $P < 0,01$) y ($r = 0,98$ $P < 0,01$), respectivamente.

La judía Cannellini, a pesar de ser rica en compuestos hidroxicinámicos, no exhibe altos contenidos de otros compuestos fenólicos, destacando las flavanonas como el grupo que mayor influencia ejerce en la capacidad antioxidante ($r = 0,67$ $P < 0,10$). Si comparamos la judía Cannellini con la judía Pinta observamos que es la judía Pinta la que presenta un mayor contenido fenólico, así como una excelente correlación de distintas familias con el ORAC. Tanto los compuestos flavonoideos, procianidinas ($r = 0,96$ $P < 0,01$) como los no flavonoideos, compuestos hidroxibenzoicos, ($r = 0,96$ $P < 0,01$) destacan por establecer altas correlaciones. La judía Pinta junto con la lenteja, son las únicas legumbres que establecen buena correlación con los flavonoles ($r = 0,94$ $P < 0,01$) y ($r = 0,99$ $P < 0,01$), respectivamente.

A la vista de las correlaciones establecidas entre las distintas familias fenólicas y la influencia que podrían establecer en la capacidad antioxidante, se desprende que son las procianidinas los compuestos más influyentes en la capacidad para captar radicales libres de las leguminosas objeto de estudio ($r = 0,83$ $P < 0,01$). Estos resultados podrían deberse a las altas concentraciones que presentan estos grupos de compuestos en las legumbres, principalmente en las judías Pintas y en la lenteja Pardina y la gran actividad antioxidante que se les atribuye.

Conclusiones

De los cambios producidos en la fracción fenólica de las legumbres estudiadas como consecuencia del proceso de deshidratación se puede resaltar que:

- Las isoflavonas se perfilan como la principal familia de compuestos fenólicos presentes en los garbanzos Sinaloa y Castellano, mostrando un incremento en su contenido en el caso del garbanzo Sinaloa como consecuencia del tratamiento de cocción y deshidratación; este hecho confiere a dichas harinas deshidratadas importantes propiedades beneficiosas, ya que las isoflavonas son consideradas importantes fitoestrógenos;
- La lenteja Pardina sin embargo es más rica en compuestos flavonoideos, como catequinas, procianidinas y flavonoles, mostrando altas concentraciones de los mismos. Sin embargo, una vez son sometidas las harinas de lenteja a un proceso de deshidratación se producen acusadas reducciones como consecuencia de las disminuciones que experimentan los glucósidos de catequina y los derivados de kaempferol;
- La fracción fenólica en judías muestra acusadas diferencias tanto en la composición como en los contenidos encontrados. Así, mientras que en la judía Cannellini destacan los compuestos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, en la judía Pinta se encuentran mayoritariamente las catequinas y procianidinas, debido probablemente a la diferente coloración de la testa de estas leguminosas. Las diferentes etapas del proceso de deshidratación promueven un notable descenso en todos y cada uno de estos componentes;
- La actividad antioxidante, íntimamente ligada a la composición fenólica, destaca en el caso de la judía Pinta y la lenteja Pardina con niveles importantes, tanto en harinas crudas como deshidratadas. Las leguminosas sometidas al proceso industrial de deshidratación muestran reducciones significativas de dicha capacidad antioxidante, probablemente debido a la reducción de procianidinas, flavonoles y flavonas durante el procesado;
- El análisis de regresión lineal muestra importantes correlaciones significativas entre la capacidad antioxidante y los compuestos fenólicos

totales, siendo las procianidinas los compuestos más influyentes en la capacidad para captar radicales libres.

CAPITULO 4: EFECTO DE LA DESHIDRATACIÓN SOBRE LA FRACCIÓN DE CARBOHIDRATOS

Interés del Estudio

En los últimos veinte o treinta años, el conocimiento acerca del papel fisiológico que juegan los diferentes tipos de carbohidratos y su relación con el mantenimiento de la salud o el desarrollo de enfermedades ha avanzado de forma considerable y ha puesto en tela de juicio muchas de las antiguas creencias sobre los azúcares, el almidón y la fibra alimentaria.

Los carbohidratos incluyen una gran variedad de estructuras diferentes, que a su vez determinan múltiples efectos fisiológicos en el cuerpo humano. Proporcionan por lo general entre un 40 y un 75% del total de la ingesta energética, de forma que suponen la fuente de energía más importante de la dieta del ser humano. El tipo de carbohidratos también es variable: el almidón proporciona del 20 al 50%, y en algunos casos superior, del total de la ingesta energética; los azúcares suponen del 9 al 27% del total de la ingesta energética.

El procesamiento industrial de las harinas de leguminosas puede influir de manera importante en los carbohidratos, especialmente en lo que se refiere a la velocidad de digestión, al alcance de la digestión del almidón en el intestino delgado y al contenido y las propiedades funcionales de los componentes de la fibra alimentaria. Todos estos efectos serán analizados y evaluados en el presente capítulo.

Métodos Analíticos

Determinación de Carbohidratos Solubles

El análisis de los carbohidratos de bajo peso molecular en las muestras seleccionadas se realiza según se detalla en el Capítulo 2 para la determinación de α -galactósidos.

Determinación de Fibra Alimentaria

El contenido en fibra alimentaria por el método 991.43 de la AOAC (1995), fue determinado en las muestras de garbanzos, lentejas y judías, incluyendo cada una de las etapas del procesado térmico (remojo, cocción y deshidratación). En este método es necesario llevar a cabo dos repeticiones en paralelo, una para establecer

el contenido en cenizas y otra para determinar el contenido de proteínas. Se trata de un método en el que la fibra es aislada como residuo indigestible y medida gravimétricamente, tras la eliminación enzimática de los compuestos que no forman parte de la fibra (almidón y compuestos proteicos), y posterior corrección de los contenidos en proteínas y cenizas. Los residuos que permanecen después del tratamiento enzimático (α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa) se filtran y se someten a varios lavados con agua a 70 °C. Los residuos insolubles se aíslan mediante filtración y los solubles se precipitan con etanol. Una vez secados los residuos gravimétricos en una estufa a 105 °C, obtenemos la fibra insoluble (FI) y la fibra soluble (FS). La determinación de las cenizas y proteínas (mediante Kjeldahl N x 6,25) se lleva a cabo a partir de los residuos gravimétricos, para poder efectuar así las correspondientes correcciones. La fibra total (FT) fue determinada como la suma de FI y FS. La cuantificación de nitrógeno mediante Kjeldahl y de cenizas se realizó según métodos oficiales (AOAC, 1995).

Análisis Químico de los Componentes de la Fibra Alimentaria

La determinación de la fibra alimentaria como suma de cada uno de los constituyentes, requiere llevar a cabo una hidrólisis ácida de los residuos de la fibra soluble e insoluble, obtenidos tras el tratamiento enzimático (Lee y col., 1992).

Los residuos de fibra insoluble (100,0 mg \pm 0,1) se someten a una hidrólisis secuencial en ácido sulfúrico 12M a temperatura ambiente, seguido de otra hidrólisis 0,6M (mediante dilución con agua desionizada) durante 3 horas a 100 °C en un bloque termostático. Durante la hidrólisis en ácido sulfúrico 12M va a tener lugar la formación de ésteres de sulfato de celulosa, mientras que en la hidrólisis en ácido sulfúrico 0,6M se producirá la ruptura de los ésteres formados y la regeneración de los monosacáridos libres (Garleb y col., 1989). Los residuos de fibra soluble (100,0 mg \pm 0,1) solamente fueron sometidos a una hidrólisis en ácido sulfúrico 0,6M durante 3 horas a 100 °C.

El objetivo de la hidrólisis ácida es conseguir la liberación de los principales componentes de la fibra alimentaria, azúcares neutros y ácidos urónicos. Los residuos insolubles, que se obtienen tras la hidrólisis ácida (12+0,6M) se cuantifican gravimétricamente como lignina Klason. Para ello se secan los residuos en una

estufa a 105 °C, durante 18 horas, transcurridas las cuales se dejan enfriar las placas en desecador y se pesan a temperatura ambiente con precisión de $\pm 0,1$ mg.

Para la determinación de los azúcares neutros se procedió a la neutralización de los hidrolizados utilizando una columna de resina de intercambio iónico AG4-X4 (Bio-Rad). La composición en azúcares neutros de los hidrolizados fue determinada mediante un sistema de HPLC. Las muestras se disolvieron en agua desionizada y se filtraron a través de un Sep-Pack y un filtro Millex HV13 (0,45 μ m), antes de inyectarse en el sistema cromatográfico. El sistema analítico utilizado para separar los azúcares neutros consistió en una precolumna (Aminex Carbo-P, Bio-Rad) en serie con una columna de análisis de carbohidratos (Aminex HPX-87P, Bio-Rad) utilizando un detector de índice de refracción. Los picos cromatográficos fueron identificados por comparación de los tiempos de retención de los picos desconocidos con su correspondiente patrón de la curva de calibrado (Jaime y col., 2002). En el caso de la ramnosa y galactosa se produce una coelución. La cuantificación se efectuó por medio de la adición a las muestras de un patrón interno (eritritol) antes de neutralizar los hidrolizados, utilizando el programa System Gold 7,0.

La determinación de ácidos urónicos se realizó mediante colorimetría utilizando como reactivo el m-hidroxidifenilo (MHDP) y como patrón ácido galacturónico monohidratado (Blumenkrantz y Asboe-Hansen 1973). Se realizó en medio ácido concentrado, siendo hidrolizados los ácidos poligalacturónicos en unidades de ácido galacturónico y transformado en ácido 5-formilfuroico, que se condensa con el reactivo colorimétrico, altamente selectivo, y forma complejos coloreados cuya densidad óptica está en función de la concentración de ácido galacturónico.

Almidón: Cuantificación y Caracterización Microestructural

Cuantificación

El contenido en almidón total se determinó de acuerdo con Vidal-Valverde y col. (1998), usando un método basado en la digestión enzimática total de almidón a glucosa. El contenido en glucosa se midió de acuerdo con Dahlqvist (1964) y el contenido en almidón total se calculó multiplicando el contenido en glucosa por 0,9.

El almidón disponible se determinó de acuerdo al método desarrollado por Li y col. (1985).

El análisis del almidón se realizó a partir del residuo insoluble en alcohol (RIA). Se pesaron 3 g de muestra y se suspendieron en 50 mL de etanol al 80% (v/v). La mezcla se llevó a ebullición con reflujo durante 15 minutos, transcurridos los cuales se dejó enfriar. El sobrenadante se filtró a vacío a través de una placa filtrante n° 2. El proceso de extracción se repitió con el residuo resultante dos veces más. En el líquido resultante de los lavados del residuo con agua destilada se realizó el Test de Mölich hasta dar negativo (Pearson, 1975).

La determinación del almidón se realizó sometiendo el residuo a una digestión enzimática con amiloglucosidasa para transformar el almidón presente en glucosa. Dependiendo del tiempo transcurrido durante la incubación enzimática se determinó el almidón obtenido como almidón disponible (30 minutos) o almidón total (3 horas). La determinación se realizó mediante ensayo colorimétrico utilizando como reactivo TGO. Para su preparación se pesaron 10 mg de la enzima glucosa-oxidasa y se disolvieron en 50 mL de solución tamponada Tris pH 7, manteniéndolo en continua agitación durante 30 segundos. Posteriormente se añadieron 0,5 mL de solución peroxidasa, 0,5 mL de solución orto-dianisidina y 1 mL de solución detergente Tritón X-100. Por último, se enrasó con agua destilada hasta un volumen final de 100 mL y se filtró a través de una placa filtrante n°1.

Para cuantificar el almidón presente en las muestras se utilizó la siguiente expresión:

$$\% \text{ Almidón} = (C \times P_M \times F / P_R \times 10^3 \times D \times V) \times 100$$

Donde:

C: μ g glucosa obtenida durante el ensayo

P_M: Peso de la muestra (g en sustancia seca)

F: Factor de corrección glucosa-almidón (0,9)

P_R: Peso del residuo después de la extracción de los carbohidratos solubles (mg)

D: Factor de dilución

V: Volumen de extracto tomado para el ensayo (mL)

Caracterización Microestructural: Microscopía Electrónica de Barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM: scanning electron microscopy) nos permite la observación y caracterización superficial de materiales inorgánicos y orgánicos, facilitando información sobre la morfología superficial del material analizado. De esta manera obtendremos información acerca de la microestructura de las harinas de legumbres estudiadas y los cambios que experimentan durante el procesado industrial. Las partículas de las harinas liofilizadas se colocaron sobre una tapa adhesiva por ambos lados montada en tubos de aluminio. Las muestras se sometieron a una corriente de nitrógeno que elimina las partículas no adheridas. A continuación se procedió a su recubrimiento con un material conductor como es el oro, utilizando un equipo Sputter Caoter SC502. La imagen proporcionada por SEM se genera a partir de la interacción de un haz de electrones que barre un área determinada sobre la superficie de las harinas. El microscopio electrónico de barrido utilizado fue un Philips XL30, acoplado al analizador EDAX DX4i, que opera con un voltaje de aceleración de 20 kV.

Resultados y Discusión

Carbohidratos Solubles

El contenido de azúcares solubles en muestras de legumbres crudas y procesadas está representado en la Tabla 27. Las legumbres crudas analizadas presentan diferentes contenidos, así los garbanzos exhiben mayores niveles de azúcares solubles totales (74,3 y 70,7 mg/g m.s. en Sinaloa y Castellano, respectivamente), seguidos de las judías (66,0 y 58,1 mg/g m.s. en Pinta y Cannellini, respectivamente) y finalmente la lenteja Pardina es la legumbre que muestra menores contenidos (40,3 mg/g m.s.). En general, destaca la presencia de α -galactósidos (GOS), que representan un 40-72% del contenido total de azúcares, excepto en las judías donde se observa que los niveles de sacarosa son superiores a los de GOS. El mayor contenido en sacarosa respecto al total de azúcares analizados lo presenta la judía Pinta (57%). En relación a los monosacáridos, éstos aparecen en baja concentración en las legumbres estudiadas, lo que concuerda con lo indicado por otros autores (Frías y col., 1996; Sánchez-Mata y col., 1999) que indican que los monosacáridos llegan a no estar presentes.

Tabla 27. Contenido de carbohidratos solubles en leguminosas crudas y procesadas (mg/g m.s.).

Legumbre	Fructosa	Glucosa	Galactosa	Sacarosa	Maltosa	GOS Totales	Azúcares Totales
Garbanzo Sinaloa							
Cr	2,7 ± 0,3 ^c	1,9 ± 0,2 ^b	3,0 ± 0,2 ^b	27,1 ± 2,5 ^c	1,4 ± 0,1 ^d	38,2	74,3
R	1,9 ± 0,2 ^b	1,6 ± 0,1 ^b	2,6 ± 0,2 ^b	17,4 ± 1,5 ^b	0,8 ± 0,08 ^c	28,3	52,6
R+C	1,6 ± 0,2 ^b	1,5 ± 0,2 ^b	2,6 ± 0,2 ^b	15,1 ± 1,5 ^b	0,5 ± 0,03 ^b	25,9	47,2
R+C+D	1,1 ± 0,1 ^a	1,0 ± 0,1 ^a	1,5 ± 0,1 ^a	10,1 ± 0,8 ^a	0,2 ± 0,01 ^a	18,1	32,0
Garbanzo Castellano							
Cr	3,1 ± 0,2 ^c	0,5 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,0 ^b	15,2 ± 0,2 ^d	3,3 ± 0,2 ^c	48,5	70,7
R	2,1 ± 0,1 ^b	3,8 ± 0,3 ^c	0,5 ± 0,0 ^c	12,0 ± 0,5 ^c	2,3 ± 0,1 ^b	35,4	55,6
R+C	0,3 ± 0,1 ^a	0,8 ± 0,0 ^b	0,8 ± 0,1 ^d	5,2 ± 0,3 ^a	1,0 ± 0,1 ^a	21,0	29,1
R+C+D	0,4 ± 0,1 ^a	0,6 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,0 ^a	6,4 ± 0,2 ^b	1,2 ± 0,1 ^a	21,0	29,9
Lenteja Pardina							
Cr	1,1 ± 0,1 ^c	0,4 ± 0,04 ^c	tr	9,2 ± 1,0 ^d	0,5 ± 0,03 ^c	29,1	40,3
R	0,8 ± 0,07 ^b	0,3 ± 0,02 ^b	tr	5,1 ± 0,5 ^c	0,3 ± 0,01 ^b	17,7	24,2
R+C	0,4 ± 0,03 ^a	0,2 ± 0,01 ^a	tr	3,3 ± 0,2 ^b	0,2 ± 0,01 ^a	14	18,1
R+C+D	tr	tr	tr	1,1 ± 0,1 ^a	tr	5	6,1
Judía Cannellini							
Cr	1,2 ± 0,3 ^c	0,8 ± 0,1 ^a	0,5 ± 0,1 ^a	28,9 ± 1,2 ^d	n.d.	26,7	58,1
R	0,3 ± 0,0 ^b	6,1 ± 0,6 ^b	tr	22,1 ± 1,3 ^c	n.d.	19,5	48,0
R+C	0,3 ± 0,0 ^b	tr	tr	13,8 ± 1,1 ^b	n.d.	7,7	21,8
R+C+D	0,2 ± 0,0 ^a	tr	tr	9,8 ± 0,5 ^a	n.d.	6,4	16,4
Judía Pinta							
Cr	0,5 ± 0,0 ^c	0,4 ± 0,1 ^a	0,7 ± 0,0 ^a	37,5 ± 1,8 ^c	n.d.	26,9	66,0
R	0,3 ± 0,0 ^b	5,6 ± 0,1 ^b	tr	27,7 ± 2,1 ^b	n.d.	19,8	53,3
R+C	0,3 ± 0,0 ^b	tr	tr	21,4 ± 1,2 ^a	n.d.	17,2	38,9
R+C+D	0,2 ± 0,0 ^a	tr	tr	21,2 ± 1,1 ^a	n.d.	15,8	37,2

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$). n.d. = no detectado; tr = trazas.

GOS totales = \sum rafinosa, ciceritol y estaquiosa (presentados en Tabla 19).

Si analizamos el porcentaje que representan la suma de fructosa, glucosa y galactosa en las muestras objeto de estudio, observamos que es el garbanzo Sinaloa la única legumbre que presenta un contenido superior al 6% del total de estos azúcares. Estos resultados concuerdan con los publicados recientemente por Vidal-Valverde y col. (2002) y Martín-Cabrejas y col. (2003).

Cuando las legumbres son sometidas al proceso de remojo se produce una reducción del 17-40% en los niveles de azúcares solubles, siendo la lenteja la legumbre que presenta mayores descensos (Figura 30). El azúcar que experimenta una mayor reducción en todas las leguminosas estudiadas es la sacarosa, destacando la lenteja (44% de descenso), debido probablemente a la lixiviación que se produce al agua de remojo.

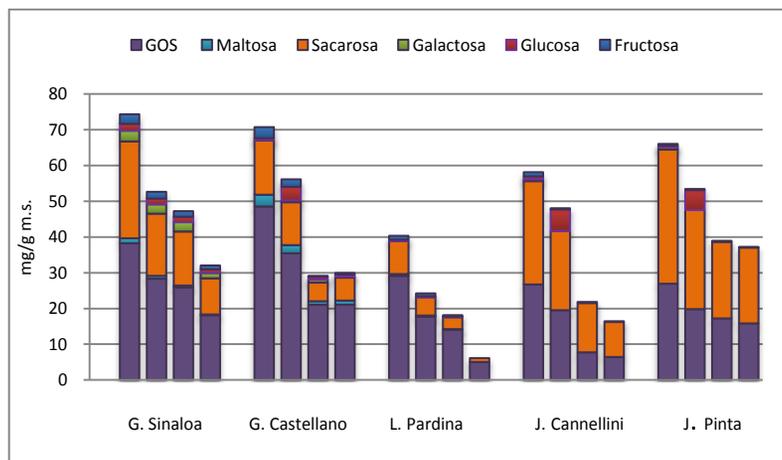


Figura 30. Variación del contenido de carbohidratos solubles en muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación (mg/g m.s.). (1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Respecto a la cocción, etapa en la que se facilita la solubilización de los azúcares, se aprecian reducciones del total de azúcares solubles del 62% en la judía Cannellini, 59% en el garbanzo Castellano, 55% en la lenteja Pardina, 41% en la judía Pinta y 36% en el garbanzo Sinaloa. Este descenso es debido principalmente a la pérdida de GOS que experimentan notables reducciones, siendo más destacada en la judía Cannellini (60%). En relación al resto de azúcares solubles, la sacarosa es el principal azúcar presente en todas las legumbres estudiadas después de la cocción (Figura 30)

mostrando descensos importantes en esta etapa, que incluso son más acusados que los encontrados en la bibliografía (Vidal-Valverde y col., 1998; Sánchez-Mata y col., 1999; Martín-Cabrejas y col., 2003, 2006). Diversos autores han observado un apreciable aumento de los niveles de mono- y disacáridos después de la cocción, debido principalmente a la hidrólisis de oligo- y polisacáridos en las muestras o a la formación de otros compuestos durante el proceso de cocción (Vijayakumari y col., 1997; Somiari y col., 1993).

El proceso de deshidratación industrial, da lugar, por lo general a importantes reducciones de los azúcares solubles (Figura 30). Se ha observado que este descenso, si se refiere a las muestras crudas, es más acentuado en el caso de la lenteja (85%) y menos acusado en el caso de la judía Pinta (44%). Si se analizan los porcentajes de disminución que experimenta cada azúcar respecto a las legumbres crudas, se observa que se reducen en similares proporciones, lo que indica que el grado de reducción de los azúcares depende de la intensidad del proceso. Como se ha comentado en el capítulo 1, los niveles de GOS también presentan drásticas reducciones, disminuyendo así el nivel de antinutrientes en las muestras después de haberlas sometido al tratamiento de deshidratación, previo remojo y cocción.

Fibra Alimentaria: Cuantificación Enzimática-Gravimétrica

Existen diversos estudios acerca de los efectos de diferentes procesos térmicos sobre los componentes de la fibra alimentaria (FA) (Pérez-Hidalgo y col., 1997; Rehiman y col., 2004; Barampana y col., 1995). En las leguminosas, sin embargo, no existe información en relación con los efectos del procesamiento industrial de deshidratación sobre las fracciones de la fibra alimentaria.

En general, el procesamiento industrial provoca importantes cambios en el contenido de fibra alimentaria (Tabla 28), destacando la etapa de deshidratación, en la cual el impacto del tratamiento térmico es mayor. Los niveles de FT en las harinas de leguminosas crudas muestran contenidos de fibra insoluble y soluble relativamente altos, similares o superiores a los de otras legumbres, y más elevados que lo de cereales (Esteban y col., 1998; Li y col., 2002, Martín-Cabrejas y col., 2004).

Tabla 28. Contenido de fibra total y su distribución de FI y FS en muestras crudas y procesadas de leguminosas (mg/g m.s.).

Legumbre	FI	FS	FT	FI:FS
Garbanzo Sinaloa				
Cr	195,4 ± 9,8 ^a	15,1 ± 1,1 ^a	210,5	13:1
R	215,1 ± 12,9 ^a	15,4 ± 1,3 ^a	230,5	14:1
R+C	233,1 ± 11,7 ^b	14,6 ± 0,9 ^a	247,7	16:1
R+C+D	265,8 ± 15,3 ^c	19,9 ± 1,8 ^b	285,7	13:1
Garbanzo Castellano				
Cr	204,8 ± 2,7 ^a	9,6 ± 0,1 ^a	214,4	21:1
R	197,6 ± 3,3 ^a	12,8 ± 0,8 ^b	210,4	15:1
R+C	235,1 ± 1,1 ^b	15,0 ± 0,8 ^c	250,0	16:1
R+C+D	252,9 ± 1,2 ^c	19,6 ± 0,6 ^d	272,5	13:1
Lenteja Pardina				
Cr	216,3 ± 12,7 ^a	26,8 ± 2,1 ^c	243,1	8:1
R	217,3 ± 12,0 ^a	17,6 ± 1,6 ^a	234,9	12:1
R+C	282,5 ± 16,7 ^b	21,8 ± 1,9 ^b	304,3	13:1
R+C+D	274,0 ± 17,3 ^b	19,6 ± 1,8 ^b	293,6	14:1
Judía Cannellini				
Cr	211,4 ± 2,8 ^a	58,2 ± 1,2 ^a	269,6	4:1
R	212,0 ± 0,9 ^a	65,8 ± 0,5 ^b	277,8	3:1
R+C	218,9 ± 1,1 ^b	77,6 ± 1,4 ^c	296,5	3:1
R+C+D	230,8 ± 1,6 ^c	79,1 ± 3,1 ^c	309,9	3:1
Judía Pinta				
Cr	163,7 ± 2,4 ^b	54,3 ± 0,9 ^a	218,1	3:1
R	147,6 ± 1,3 ^a	64,4 ± 1,3 ^b	212,0	2:1
R+C	171,0 ± 0,9 ^c	73,7 ± 2,5 ^c	244,9	2:1
R+C+D	189,5 ± 2,3 ^d	75,2 ± 1,0 ^c	264,7	3:1

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Si se analizan los valores de FT de las leguminosas crudas, se observa que la judía Cannellini y la lenteja Pardina son las legumbres que presentan los mayores contenidos (269,6 y 243,1 mg/g m.s., respectivamente), datos que concuerdan con la bibliografía (Su y Chang, 1995; Li y col., 2002; Mahadevamma y Tharanathan, 2004). Los niveles de fibra insoluble en harinas de leguminosas crudas son mayores que las que presentan otras variedades de legumbres (Rehman, y col., 2004; Bednar y col., 2001; Martín-Cabrejas y col., 2003). La fracción de FI representa entre el 75 y el 96% del total de fibra alimentaria (FT) en las legumbres estudiadas. En lo que se refiere a la fibra soluble, el contenido de esta fracción es notablemente diferente dependiendo de la legumbre estudiada, ya que muestra elevados niveles en el caso de las judías (25-22%) y menores valores en la lenteja y los garbanzos (11-4%) (Figura 31). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en la literatura para muestras diversas de leguminosas comunes (Bednar y col., 2001; Li y col., 2002).

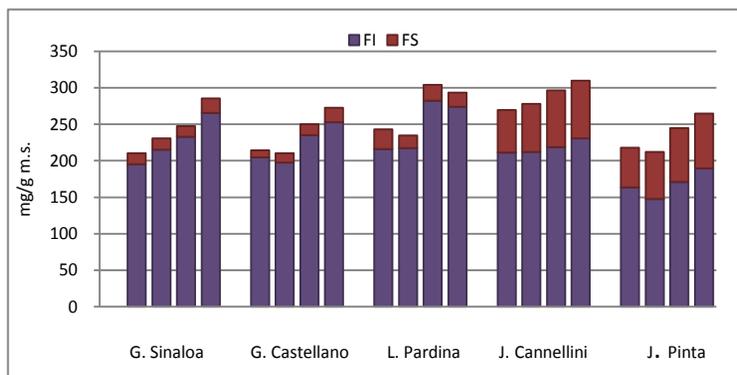


Figura 31. Relación FI:FS en muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación (mg/g m.s.).

(1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

El procesado de las legumbres trae consigo algunos cambios en las fracciones de fibra alimentaria (Tabla 28). En las legumbres estudiadas, el proceso de remojo (R) provoca distintos efectos sobre la fracción de FI, mostrando una reducción en la judía Pinta (10%) y cambios apenas destacables en el garbanzo Sinaloa, la lenteja Pardina y judía Cannellini. Pérez-Hidalgo y col. (1997) obtienen ligeros incrementos de FI en garbanzos que han sufrido un proceso de remojo en diferentes disoluciones. Sin embargo, los resultados obtenidos por Rehman y col. (2004) no

muestran cambios en el contenido de fibra en garbanzos tras el remojo, pero sí sufren ligeros incrementos cuando el proceso de remojo se lleva a cabo con bicarbonato sódico. En lo que se refiere a la FS, se observa un comportamiento notablemente diferente dependiendo de la legumbre objeto de estudio. En este sentido, el incremento más acusado se refleja en el garbanzo Castellano (33%), seguido de la judía Pinta (19%) y de la judía Cannellini (13%), mientras que el garbanzo Sinaloa no muestra cambios y la lenteja Pardina exhibe un descenso de FS (34%).

En general, al someter las muestras a un tratamiento de remojo y cocción (R+C) se produce un incremento apreciable de FI (15%, 19%, 31% en el garbanzo Castellano, Sinaloa y lenteja Pardina, respectivamente), mientras que en las judías no es tan acusado (3% y 4% en judía Cannellini y Pinta, respectivamente). Sin embargo, en el caso de la FS el comportamiento de esta fracción depende de la legumbre estudiada. Así, se observa un importante aumento de FS en harinas cocidas de garbanzo Castellano (56%) y en las dos variedades de judías (33-36%), mientras que en las harinas de lenteja Pardina se aprecian reducciones (19%) de esta fracción y en el garbanzo Sinaloa no se observan cambios. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en los estudios de Kutos y col. (2003) y Almeida-Costa y col. (2006), que muestran incrementos de FS en guisantes y judías. Sin embargo, Vidal-Valverde y col. (1991 y 1992) sugieren la degradación de la fibra soluble durante el proceso de cocción, provocando la reducción de su contenido. Por consiguiente, el proceso de cocción conduce a un incremento significativo en la FT en todas las legumbres estudiadas (10-25%). Según la bibliografía, los incrementos que experimenta la FA se deben principalmente a la formación de almidón resistente de complejos amilosa-lípidos y a los productos de la reacción de Maillard que se forman durante el proceso de cocción (Su y Chang, 1995). Las legumbres estudiadas muestran diferente comportamiento durante el procesado, debido a la distinta estructura y composición de la pared celular.

Finalmente, la deshidratación (R+C+D) provoca en general nuevos aumentos de FI, destacando el garbanzo Sinaloa, que es el que mayores incrementos presenta junto a la lenteja Pardina (27%) y el garbanzo Castellano (23%). En lo que respecta a la fracción soluble, los resultados obtenidos muestran una tendencia similar a los

exhibidos en el proceso de cocción, destacando el incremento de FS en el garbanzo Castellano (104%). Estos incrementos podrían ser debidos a una mayor solubilización de sustancias pécticas, las cuales presentan una estructura ramificada y son más susceptibles de sufrir una ruptura durante la deshidratación (Pérez-Hidalgo y col., 1997; Almeida-Costa y col., 2006). Por tanto, los contenidos de FT se ven incrementados (15-30%) en las harinas deshidratadas.

Los cambios que se producen a lo largo de todo el proceso se reflejan en la relación FI:FS, lo que sugiere que dicho proceso puede modificar las características dietéticas y funcionales de la fibra (Figura 31). Dicha relación se asocia con propiedades estructurales y también sensoriales que presentan las legumbres (Jenkins y col., 1998). Los resultados obtenidos de dicha relación revelan importantes modificaciones en el caso del garbanzo Castellano, con una menor relación FI:FS en las harinas deshidratadas, mientras en las harinas de lenteja Pardina se observa un notable incremento de dicha relación como consecuencia del mayor aumento de la fracción insoluble. Respecto al resto de harinas de leguminosas los cambios no son destacados. Por lo tanto, los resultados obtenidos sobre el estudio de las fracciones de fibra alimentaria a lo largo del proceso de deshidratación, muestran como dicho tratamiento podría cambiar las características físico-químicas de las harinas de legumbres e influir en los efectos fisiológicos de la fibra. La relación de fibra insoluble: soluble es importante tanto desde un punto de vista funcional como dietético.

Fibra Alimentaria: Cuantificación Enzimática-Química.

A pesar del creciente interés de los investigadores por el estudio químico de los componentes de la fibra alimentaria en los últimos años, existen todavía algunas legumbres que necesitan un estudio más pormenorizado para entender el procesado y el comportamiento de las distintas fracciones de fibra en las posibles aplicaciones en formulaciones alimentarias. Existen abundantes investigaciones acerca del análisis químico de la FI, FS y FT de legumbres específicas como son soja o distintas variedades de judías, sin embargo otras legumbres de gran consumo como son lentejas y garbanzos, todavía no han sido estudiadas exhaustivamente.

El análisis químico de los componentes de la fibra alimentaria se llevó a cabo únicamente en el garbanzo Sinaloa y en la lenteja Pardina. En este sentido, el garbanzo se trata de la principal legumbre de consumo en España, destacando el garbanzo Sinaloa respecto al Castellano por su mejor relación FI:FS, por lo que las harinas obtenidas a partir del mismo serán de mayor calidad tecno-funcional. Por otra parte, en el caso de la lenteja Pardina, sus harinas están siendo recientemente el objetivo de diversos estudios como consecuencia de su importante fracción fenólica y de su gran capacidad antioxidante (Dueñas y col., 2002, 2003) y por lo tanto resultan de interés por su posible utilización en la elaboración de nuevos productos más atractivos para el consumidor. Asimismo, cabe destacar la creciente utilización de las harinas de garbanzo y lenteja en aperitivos realizados con dichas harinas, consiguiendo así nuevas texturas y nuevas sensaciones (Han y col., 2009).

El perfil de la composición de azúcares de la fracción de FI, muestra notables diferencias entre los constituyentes de la FI de las legumbres estudiadas (Tablas 29 y 30). En el caso del garbanzo Sinaloa crudo, la matriz de FI está constituida por carbohidratos formados principalmente por arabinosa (46%) y glucosa (39%) junto con los ácidos urónicos (12%), seguidos de galactosa y xilosa, que aparecen en menor proporción (Figura 32). La arabinosa que forma parte de los polisacáridos pécticos, presenta una mayor concentración en la hidrólisis 0,6M. En cambio la glucosa, que es principalmente de origen celulósico, muestra en la hidrólisis 0,6M la existencia de una pequeña concentración que corresponde al almidón resistente, (10,6 mg/g m.s) que está presente en la fracción de fibra insoluble. Por lo tanto, de los resultados obtenidos se deduce que arabinanos y celulosa son los principales polisacáridos que forman parte de la FI en los garbanzos crudos.

Tabla 29. Composición de la fibra insoluble en harinas de garbanzo Sinaloa crudas y procesadas (mg/ g m.s.)

Legumbre	Hidrólisis	Carbohidratos						Azúcares	Lignina	Total
	H ₂ SO ₄	Gluc	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU	Totales	Klason	
Garbanzo Sinaloa										
Cr	12 + 0,6M	40,6 ± 4,1 ^a	1,5 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,1 ^b	48,4 ± 3,3 ^a	n.d.	12,9 ± 1,1 ^b	105,1	22,4 ± 2,1 ^a	127,5
	0,6M	14,7 ± 1,2	1,1 ± 0,1	1,8 ± 0,2	56,6 ± 4,5	0,6 ± 0,1	16,0 ± 1,6	90,8		90,8
	%	39	1	2	46	-	12		18	
R	12 + 0,6M	36,1 ± 2,1 ^a	2,6 ± 0,2 ^b	1,8 ± 0,1 ^b	55,3 ± 4,7 ^a	n.d.	11,6 ± 1,1 ^b	107,4	20,2 ± 2,0 ^a	127,6
	0,6M	11,9 ± 0,9	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1	62,9 ± 5,8	0,4 ± 0,1	12,0 ± 0,8	90,9		90,9
	%	34	2	2	51	-	11		16	
R+C	12 + 0,6M	55,3 ± 4,9 ^b	3,2 ± 0,3 ^c	4,0 ± 0,3 ^c	59,5 ± 4,1 ^b	n.d.	8,0 ± 0,8 ^a	130,0	67,8 ± 5,9 ^b	197,8
	0,6M	12,4 ± 1,3	1,3 ± 0,1	3,5 ± 0,3	64,2 ± 5,9	n.d.	7,8 ± 0,5	89,2		89,2
	%	43	2	3	46	-	6		34	
R+C+D	12 + 0,6M	54,2 ± 5,1 ^b	1,1 ± 0,2 ^a	0,5 ± 0,1 ^a	52,8 ± 4,2 ^a	0,3 ± 0,0	12,9 ± 1,2 ^b	121,8	87,8 ± 7,3 ^c	209,6
	0,6M	22,1 ± 2,1	n.d.	1,6 ± 0,2	62,0 ± 5,6	2,2 ± 0,2	14,8 ± 1,4	102,7		102,7
	%	44,4	1	0,4	43	0,2	11		42	

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar (n = 6). n.d. = no detectado. Gluc=glucosa; Xil=xilosa; Gal/Ram=galactosa/ramnosa; Ara=arabinosa; Man= manosa; AU= ácidos urónicos. Los % de cada azúcar se calculan respecto al total de azúcares y en el caso de la lignina Klason se calculan respecto al total.

Tabla 30. Composición de la fibra insoluble en harinas de lenteja Pardina crudas y procesadas (mg/g m.s.)

Legumbre	Hidrólisis	Carbohidratos						Azúcares	Lignina	Total
	H ₂ SO ₄	Gluc	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU	Totales	Klason	
Lenteja Pardina										
Cr	12 + 0,6M	77,7 ± 6,3 ^b	12,7 ± 1,1 ^b	1,0 ± 0,1 ^c	26,0 ± 2,4 ^a	1,3 ± 0,1	9,7 ± 0,9 ^b	128,4	41,2 ± 3,8 ^a	169,6
	0,6M	35,1 ± 3,3	5,8 ± 0,3	1,4 ± 0,1	27,9 ± 2,5	4,7 ± 0,4	6,8 ± 0,6	81,7		81,7
	%	60	10	1	20	1	8		24	
R	12 + 0,6M	67,9 ± 1,5 ^a	8,1 ± 0,7 ^a	0,2 ± 0,01 ^a	31,1 ± 2,8 ^a	n.d.	7,2 ± 0,6 ^a	114,5	51,4 ± 4,8 ^b	165,9
	0,6M	27,2 ± 0,6	8,0 ± 0,7	1,1 ± 0,1	36,2 ± 3,1	0,9 ± 0,1	8,9 ± 0,8	82,3		82,3
	%	59,3	7	0,2	27,2	-	6,3		31	
R+C	12 + 0,6M	85,0 ± 7,1 ^b	12,8 ± 1,2 ^b	n.d.	31,4 ± 2,9 ^b	n.d.	9,3 ± 1,0 ^b	138,5	58,2 ± 5,1 ^b	196,7
	0,6M	20,6 ± 1,9	6,5 ± 0,5	0,3 ± 0,02	32,8 ± 2,9	1,0 ± 0,1	8,9 ± 0,8	70,1		70,1
	%	61	9	-	23	-	7		30	
R+C+D	12 + 0,6M	89,7 ± 7,2 ^b	15,0 ± 1,3 ^b	0,6 ± 0,02 ^b	29,2 ± 2,5 ^a	n.d.	13,5 ± 1,2 ^c	148,0	67,7 ± 5,4 ^b	215,7
	0,6M	14,3 ± 1,3	9,1 ± 0,8	0,7 ± 0,03	31,7 ± 2,8	n.d.	12,5 ± 0,8	68,3		68,3
	%	60,6	10	0,4	20	-	9		31	

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar (n = 6). n.d. = no detectado. Gluc=glucosa; Xil=xilosa; Gal/Ram=galactosa/ramnosa; Ara=arabinosa; Man= manosa; AU= ácidos urónicos. Los % de cada azúcar se calculan respecto al total de azúcares y en el caso de la lignina Klason se calculan respecto al total.

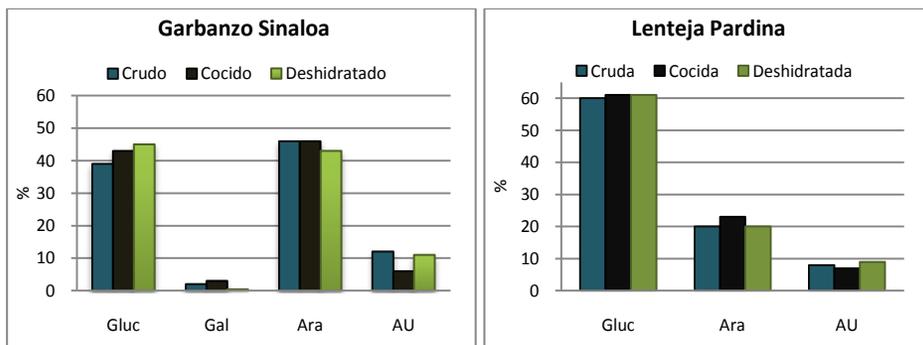


Figura 32. Composición de la FI en las harinas de G. Sinaloa y L. Pardina durante el proceso de deshidratación industrial (%).

Sin embargo, la lenteja Pardina cruda muestra un perfil de azúcares diferente, destacando en primer lugar los niveles de glucosa (60%), seguido de arabinosa (20%), xilosa (10%) y ácidos urónicos (8%); la manosa y galactosa se encuentran en menores concentraciones (Figura 32). En este caso, sólo una parte de glucosa tiene origen celulósico, ya que el 46% de la glucosa (35,1 mg/g m.s.) ha sido liberado en la hidrólisis 0,6 M. Los niveles de xilosa y manosa (componentes de la pared celular) son mucho menores que los de glucosa, de origen no celulósico, lo que nos indica que la mayor parte de glucosa liberada procede de almidón resistente existente en la fracción de FI (Tabla 30). Por otra parte, la solubilización total de arabinosa en condiciones ácidas suaves (0,6 M) indica la existencia de arabinanos no unidos a la matriz celulósica, como sucedía también en el caso del garbanzo Sinaloa. Sin embargo, los ácidos urónicos tienen comportamiento algo diferente, ya que sólo se solubilizan en un 70% en condiciones suaves, lo que puede indicar la presencia de ciertos homogalacturonanos unidos a la matriz de celulosa. El diferente comportamiento de cada harina frente a las hidrólisis 0,6 M y 12 M, parece ser debido a la diferente estructura y composición de la pared celular de cada una de ellas (Brett y Waldron, 1996).

En relación a las legumbres procesadas, la hidrólisis ácida de los residuos insolubles (FI) y el consiguiente análisis químico de sus componentes (azúcares neutros + ácidos urónicos), refleja el comportamiento observado por el método enzimático-gravimétrico de la AOAC (1995). El proceso industrial (remojo, cocción, deshidratación) al que han sido sometidas las legumbres, implica una serie de

cambios en los componentes de la pared celular de las mismas. La lenteja Pardina cocida muestra mayores niveles de FI que la lenteja cruda, ocasionados por un incremento de los azúcares totales y en mayor medida, de la lignina. No obstante, el perfil de azúcares no presenta cambios notables siendo siempre la glucosa el principal monosacárido, seguido de la arabinosa.

Con respecto al garbanzo, la cocción supone un incremento de FI, debido al aumento de los azúcares y especialmente de la lignina que pasa a representar el 34% de la FI. El perfil de azúcares del garbanzo cocido muestra diferencias con el crudo, observándose un incremento de la contribución de la glucosa y una reducción en los ácidos urónicos.

El proceso de deshidratación parece provocar nuevos incrementos en los constituyentes de la FI. En el caso de la lenteja, este aumento se debe tanto a los carbohidratos como a la lignina, mientras que en el garbanzo es la lignina la que experimenta un aumento. El perfil de azúcares de FI de la lenteja deshidratada es bastante similar al que presentaba en las anteriores etapas, aunque se aprecia una pérdida de galactosa y un enriquecimiento en urónicos. Sin embargo en el garbanzo deshidratado parece observarse un ligero enriquecimiento de la FI en glucosa y un empobrecimiento en arabinosa y también en galactosa.

De este modo, los tratamientos térmicos (cocción y deshidratación), producirían la insolubilización de compuestos que contienen glucosa. Estos resultados coinciden con los obtenidos previamente por otros autores (Jenkins y col., 1998; Rehman y col., 2004) que encontraron cambios en los contenidos de fibra alimentaria (almidón resistente y polisacáridos no amiláceos) procedentes de harinas cocinadas de legumbres. El proceso de cocción incrementa el contenido de FI, siendo mayores los incrementos cuando se utiliza la presión y el vapor durante el proceso de cocción. (Cheung y Chau., 1998; Kawale y col., 2005). No obstante, otros investigadores (Almeida-Costa y col., 2006) han observado lo contrario, descensos en el contenido de FI en legumbres procesadas. Los diferentes resultados encontrados en la bibliografía se pueden atribuir bien a las distintas características que presentan las legumbres estudiadas así como a la metodología utilizada.

En relación a la lignina Klason, las muestras crudas exhiben niveles relativamente altos, especialmente la lenteja (41,2 mg/g m.s.), si lo comparamos con otras legumbres (Asp, 1996; Mahadevamma y col., 2004; Martín-Cabrejas y col., 2004), lo cual posiblemente sea debido a la presencia de residuos de proteína intracelular coprecipitados en la pared celular. Sin embargo, la hidrólisis ácida de residuos insolubles muestra un comportamiento diferente dependiendo del tratamiento térmico al que ha sido sometido. Durante el procesado térmico, la lignina Klason experimenta aumentos, siendo más acusados en la etapa de deshidratación, alcanzando valores de 87,8 y 67,7 g/kg m.s. en el garbanzo Sinaloa y la lenteja respectivamente, debidos probablemente a la formación de nuevos productos insolubles (componentes de Maillard). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados en otros alimentos procesados (Rehman y col., 2004).

La composición detallada de los azúcares que constituyen la fracción de FS en muestras de legumbres crudas y procesadas se presenta en la Tabla 31. En primer lugar es preciso destacar los contenidos significativos de manosa en ambas legumbres, probablemente debido a la presencia de glicoproteínas intracelulares que contienen manosa, como ya ha sido observado en otras leguminosas (Gooneratne y col., 1994). El contenido total de azúcares en FS en el garbanzo Sinaloa crudo (6,6 mg/g m.s.) es menor que el que presenta la lenteja Pardina cruda (13,7 mg/g m.s.), lo que corrobora los resultados enzimático-gravimétricos. En el caso de la lenteja el principal azúcar es la arabinosa que representa un 55%, seguido de un menor contenido de ácidos urónicos (20%). Sin embargo, en el garbanzo Sinaloa predominan los ácidos urónicos (33%) (Figura 33), al igual que en otras legumbres (guisantes y judías) estudiadas previamente (Asp, 1996; Pérez-Hidalgo y col., 1997).

De manera similar a la FI, en la FS la composición en carbohidratos de revela diferencias entre ambas legumbres procesadas. En el caso del garbanzo Sinaloa, el proceso de cocción produce ligeros aumentos del contenido de azúcares, destacando la arabinosa y los ácidos urónicos como los principales azúcares responsables de estos incrementos. El enriquecimiento en ácidos urónicos de la FS, unido a su menor contribución en la FI del garbanzo cocido hace pensar en una solubilización parcial de polisacáridos pécticos ácidos.

Tabla 31. Composición de fibra soluble en muestras de leguminosas crudas y procesadas (mg/g m.s.).

Legumbre	Carbohidratos						Az. Totales
	Glc	Xil	Gal/Ram	Ara	Man/Fruc	AU	
Garbanzo Sinaloa							
Cr	0,1 ± 0,01 ^a	n.d.	0,6 ± 0,03 ^b	0,9 ± 0,10 ^a	2,8 ± 0,20 ^d	2,2 ± 0,1 ^a	6,6
%	2	-	9	14	42	33	
R	0,4 ± 0,02 ^d	n.d.	1,2 ± 0,01 ^c	2,4 ± 0,40 ^b	1,0 ± 0,10 ^b	2,9 ± 0,2 ^a	7,9
%	5	-	15	30	13	37	
R+C	0,2 ± 0,01 ^b	n.d.	0,5 ± 0,04 ^a	2,2 ± 0,20 ^b	0,5 ± 0,04 ^a	4,7 ± 0,4 ^b	8,1
%	3	-	6	27	6	58	
R+C+D	0,3 ± 0,01 ^c	n.d.	0,6 ± 0,04 ^b	1,9 ± 0,10 ^b	2,5 ± 0,20 ^c	2,5 ± 0,2 ^a	7,8
%	4	-	8	24	32	32	
Lenteja Pardina							
Cr	0,5 ± 0,02 ^b	0,3 ± 0,02 ^b	0,9 ± 0,05 ^d	7,5 ± 0,6 ^c	1,7 ± 0,1 ^b	2,8 ± 0,2 ^b	13,7
%	4	2	7	55	12	20	
R	0,4 ± 0,02 ^a	n.d.	0,5 ± 0,02 ^a	5,7 ± 0,4 ^b	0,9 ± 0,1 ^a	2,9 ± 0,1 ^b	10,4
%	4	-	5	55	9	27	
R+C	0,7 ± 0,03 ^c	0,2 ± 0,01 ^a	0,8 ± 0,03 ^c	4,8 ± 0,4 ^a	4,3 ± 0,4 ^c	0,9 ± 0,1 ^a	11,7
%	6	2	7	41	37	7	
R+C+D	0,8 ± 0,03 ^d	0,2 ± 0,01 ^a	0,7 ± 0,02 ^b	4,2 ± 0,3 ^a	4,5 ± 0,6 ^c	0,8 ± 0,1 ^a	11,2
%	7	2	6	38	40	7	

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Están.d.ar ($n = 6$). n.d = no detectado. Gluc=glucosa; Xil=xilosa; Gal/Ram=galactosa/ramnosa; Ara=arabinosa; Man/Fruc=manosa/fructosa; AU= ácidos urónicos; Az Totales= azúcares totales.

El proceso de deshidratación modifica ligeramente la composición de la FS de garbanzo, enriqueciéndose en arabinosa y manteniendo los valores de ácidos urónicos (Figura 33). Estos resultados, junto con la pérdida de arabinosa de la FI de garbanzos deshidratados parecen indicar la solubilización de cadenas laterales de arabinanos como consecuencia del calor aplicado a la deshidratación. Sin embargo, la lenteja presenta un comportamiento diferente ya que durante el procesamiento industrial se produce un acusado descenso de arabinosa (de 55 a 38%) y de ácidos

urónicos (de 20 a 7%) (Figura 33), lo que pone de manifiesto una degradación importante de polisacáridos pécticos tanto cadenas de homogalacturonanos como de arabinanos durante este procesamiento.

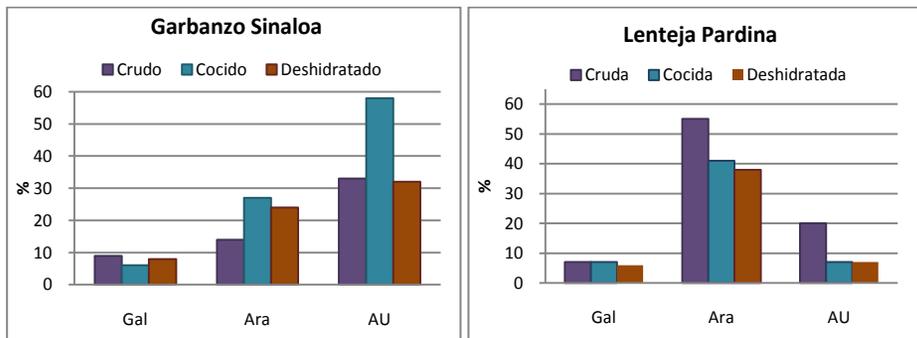


Figura 33. Composición de la FS en las harinas de G. Sinaloa y L. Pardina durante el proceso de deshidratación industrial (%).

En relación a la composición de carbohidratos de la FT (Tabla 32), se han detectado diferencias durante los procesos de cocción y deshidratación industrial. La FT sigue un comportamiento muy similar al de FI (fracción mayoritaria), mostrando incrementos de 62% y 24% en las harinas deshidratadas de garbanzo Sinaloa y de lenteja, respectivamente. Este comportamiento es debido principalmente al aumento de lignina Klason, especialmente en garbanzo, y en menor grado, a los incrementos de glucosa.

Tabla 32. Composición de fibra total en muestras de leguminosas crudas y procesadas (mg/g m.s.).

Legumbre	Carbohidratos						Az.Totales	Lignina	Az Totales + lignina
	Glc	Xil	Gal	Ara	Man	AU			
Garbanzo Sinaloa									
Cr	40,7	1,5	2,3	49,3	2,8	15,1	111,7	22,4	134,1
%	36	1	2	44	3	14		17	
R	36,5	2,6	3	57,7	1	14,5	115,3	20,2	135,5
%	32	2	3	50	1%	13		15	
R+C	55,5	3,2	4,5	61,7	0,5	12,7	138,1	67,8	205,9
%	40	2	3	45	0	9		33	
R+C+D	54,5	1,1	1,1	54,7	2,8	15,4	129,6	87,8	217,4
%	42	1	1	42	2	12		40	
Lenteja Pardina									
Cr	78,2	13	1,9	33,5	3	12,5	142,1	41,2	183,3
%	55	9	1	24	2	9		22	
R	68,3	8,1	0,7	36,8	0,9	10,1	124,9	51,4	176,3
%	55	6	1	29	1	8		29	
R+C	85,7	13	0,8	36,2	4,3	10,2	150,2	58,2	208,4
%	57	9	1	24	3	7		28	
R+C+D	90,5	15,2	1,3	33,4	4,5	14,3	159,2	67,7	226,9
%	57	10	1	21	3	9		30	

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio \pm Desviación Estándar ($n = 6$). Gluc=glucosa; Xil=xilosa; Gal=galactosa; Ara=arabinosa; Man= manosa; AU= ácidos urónicos; Az Totales= azúcares totales. Los % de cada azúcar se calculan respecto al total de azúcares y en el caso de la lignina Klason se calculan respecto al total.

En resumen, en el presente estudio se observa que el proceso térmico de deshidratación, da lugar a nuevos productos insolubles que provocan cambios en los componentes de la pared celular. Los incrementos significativos de los contenidos de FI que experimentan las muestras una vez que han sido procesadas, podrían promover cambios en las propiedades de la fibra alimentaria, que afectarían a sus propiedades tecnofuncionales, tales como porosidad, hidratación y propiedades reológicas como se pondrá de manifiesto en el capítulo 6.

Cuantificación de Almidón

El proceso térmico puede ocasionar cambios en las características físico-químicas de las legumbres, debido a las modificaciones que sufren sus componentes, especialmente el componente mayoritario, el almidón.

En la Tabla 33 está representado el perfil del almidón en las muestras de legumbres crudas y procesadas. El contenido total de almidón en las legumbres crudas está comprendido entre 463 y 534 mg/g m.s., resultados similares a los encontrados en la literatura (Tovar y Melito, 1996; Jood y col., 1998; Frías y col., 2000; Chung y col., 2008).

Se conoce que la biodisponibilidad del almidón procedente de leguminosas es relativamente baja si se compara con el almidón presente en la mayoría de los cereales, ya que el de las legumbres es rico en amilosa y bastante resistente debido a su alto poder de cristalización. En las legumbres estudiadas el almidón disponible representa un 57-65% del almidón total; por lo tanto el almidón resistente presente en las muestras crudas es un componente significativo (181,7 - 212,5 mg/g m.s.) (Figura 34).

En general, cuando las muestras son sometidas al proceso de remojo, se observa una reducción del 6-11% en el contenido de almidón total debido a la solubilización parcial de la amilopectina y a las diferencias en cuanto al tamaño de la semilla, permeabilidad de membrana y estructura del almidón (Frías y col., 2000; Pujolá y col., 2007; Rehman, 2007).

Tabla 33. Fracciones de almidón en muestras de leguminosas crudas y procesadas (mg/g m.s.).

Legumbre	Almidón Total	Almidón Disponible	Almidón Resistente
Garbanzo Sinaloa			
Cr	533,7 ± 24,2 ^b	340,0 ± 25,1 ^a	193,4 ± 12,5 ^c
R	476,9 ± 27,5 ^a	337,9 ± 20,9 ^a	139,0 ± 7,4 ^b
R+C	476,0 ± 22,3 ^a	407,4 ± 25,1 ^b	68,3 ± 4,8 ^a
R+C+D	454,2 ± 34,2 ^a	389,5 ± 22,2 ^b	64,7 ± 5,6 ^a
Garbanzo Castellano			
Cr	519,0 ± 5,2 ^b	337,3 ± 8,0 ^a	181,7±
R	487,3 ± 8,1 ^a	365,5 ± 6,0 ^b	121,8±
R+C	489,1 ± 9,7 ^a	391,3 ± 4,1 ^c	97,8±
R+C+D	493,1 ± 11,0 ^a	394,5 ± 8,0 ^c	98,2±
Lenteja Pardina			
Cr	462,7 ± 25,6 ^b	263,7 ± 16,5 ^b	199,0 ± 17,1 ^c
R	426,3 ± 29,1 ^b	236,3 ± 12,1 ^a	190,3 ± 17,1 ^c
R+C	367,0 ± 26,7 ^a	265,0 ± 11,7 ^b	102,0 ± 6,6 ^b
R+C+D	344,7 ± 25,1 ^a	291,0 ± 10,6 ^c	53,7 ± 4,9 ^a
Judía Cannellini			
Cr	529,0 ± 1,9 ^c	328,0 ± 7,0 ^a	201,0±
R	487,0 ± 4,0 ^b	355,5 ± 5,0 ^b	131,5±
R+C	442,1 ± 3,0 ^a	384,5 ± 3,9 ^c	57,6±
R+C+D	445,0 ± 2,8 ^a	356,0 ± 5,4 ^b	89,0±
Judía Pinta			
Cr	518,1 ± 12,0 ^c	305,6 ± 9,0 ^a	212,5±
R	484,0 ± 3,9 ^b	338,8 ± 8,2 ^b	145,2±
R+C	456,0 ± 1,0 ^a	387,6 ± 3,1 ^c	68,4±
R+C+D	457,2 ± 3,8 ^a	342,7 ± 3,0 ^b	114,3±

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

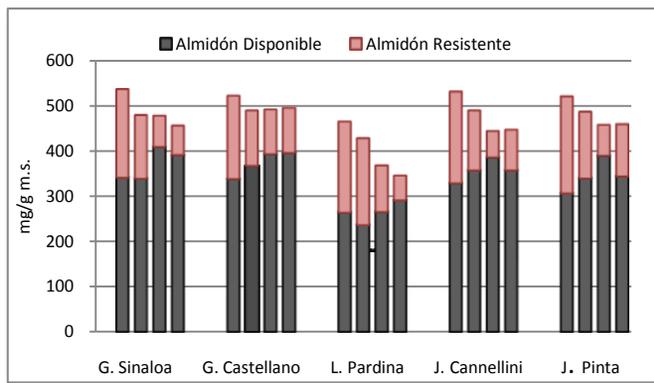


Figura 34. Distribución del contenido de almidón disponible y resistente en muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación (mg/g m.s.). (1ª columna Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Sin embargo, el contenido de almidón disponible se ve afectado de diferente manera tras el proceso de remojo, y así en el caso de la lenteja Pardina se observa un descenso del 10%, mientras lo contrario se observa en el garbanzo Castellano, la judía Cannellini y la judía Pinta que exhiben aumentos significativos en el contenido de almidón disponible (8-11%) (Figura 34). Sin embargo, los cambios más importantes se producen en la fracción de almidón resistente, donde se aprecian disminuciones de su contenido en todas las legumbres estudiadas, siendo más notable en el caso de la judía Cannellini, Pinta y garbanzo Castellano (32-35% de descensos). En la literatura se han encontrado distintos resultados, indicando que exponen que los cambios en el contenido del almidón durante el proceso de remojo parecen depender no solamente del tipo de solución utilizada sino también del tipo de legumbre que ha sido estudiada (Pujolá y col., 2007).

Respecto a la cocción, el efecto sobre el contenido del almidón total es muy distinto dependiendo de la legumbre que se trate; así éste no se ve alterado en el caso de las variedades de garbanzos estudiadas, mientras que en la lenteja Pardina se aprecia una reducción considerable (14%), al igual que en la judía Cannellini y Pinta (9 y 6% respectivamente). En relación al contenido de almidón disponible, éste aumentó considerablemente como resultado de la cocción, especialmente en el garbanzo Sinaloa y en la judía Pinta (20 y 14% respectivamente). Paralelamente, el almidón resistente experimentó notables reducciones en el caso del garbanzo Sinaloa, la lenteja y las judías ($\approx 52\%$), y reducciones menos marcadas en el garbanzo Castellano

(20%) (Figura 34). En la literatura se observa una tendencia similar en el comportamiento del almidón resistente (Pujolá y col., 2007; Tovar y col., 1996; Marconi y col., 2000). En general, el procesado de las legumbres (remojo, cocción, autoclave...) provoca una mejora de la digestibilidad, debido a la gelatinización de los gránulos de almidón y probablemente a la reducción en el contenido de factores antinutricionales (compuestos fenólicos, inhibidores enzimáticos, fitatos...) en las semillas. De hecho, la eliminación parcial de los taninos y del ácido fítico libera un extenso espacio dentro de la matriz, facilitando el ataque enzimático y como consecuencia mejorando la digestibilidad de la proteína y del almidón después del procesado térmico (Negi y col., 2001; Martín-Cabrejas y col., 2009).

Existe escasa literatura respecto a la influencia del proceso de deshidratación en el contenido de las distintas fracciones de almidón. Si comparamos la etapa de deshidratación con las etapas previas de remojo y cocción, se pone de manifiesto que apenas se aprecian cambios en el contenido de almidón total. Sin embargo, se observa una reducción de la disponibilidad del almidón en las judías (12-7%) mientras que la lenteja Pardina experimenta un incremento del almidón disponible (10%) (Figura 35). En consecuencia, el almidón resistente aumenta en las judías deshidratadas ($\cong 61\%$), mientras que en la lenteja se produce una reducción del 48% y en garbanzos no se aprecian diferencias. No obstante, el efecto del procesado en las leguminosas en las fracciones de almidón es bastante controvertido. Ratnayake y col. (2001), Osorio-Díaz y col. (2003) y Tharanathan y Mahadevamma (2003) verifican que el procesado térmico produce incrementos en los valores del almidón resistente, debidos principalmente a la retrogradación de la amilosa. Sin embargo, Kutos y col. (2003) y Almeida-Costa y col. (2006), subrayan que en las muestras crudas el contenido de almidón resistente es casi dos veces mayor que el encontrado en las muestras procesadas. Hoover y Zhou (2003) y Almeida-Costa y col. (2006) atribuyen las variaciones en los resultados del almidón resistente a los diferentes métodos de análisis empleados.

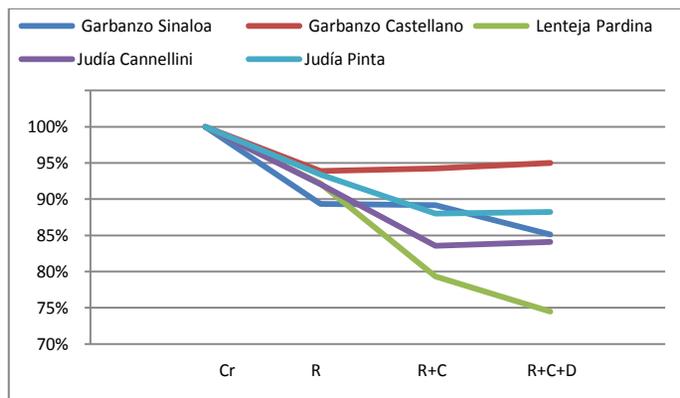


Figura 35. Reducciones de almidón total en muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Caracterización Microestructural: Microscopía Electrónica de barrido

Gracias al uso de la microscopía electrónica de barrido (SEM, scanning electron microscopy) podremos obtener información complementaria sobre las propiedades fisicoquímicas de las harinas de leguminosas. SEM se utiliza principalmente para estudiar los cambios microestructurales que tienen lugar en las leguminosas durante el procesado industrial. La imagen proporcionada por la técnica SEM de las legumbres se muestra en las Figuras 36-40. En las imágenes se puede observar que los gránulos de almidón son los componentes de almacenamiento más representativos (Marconi y col., 2000). Estos gránulos se caracterizan por formas esféricas/ovaladas y tamaños que comprenden desde las 17 μm (en el garbanzo Sinaloa) hasta las 31 μm (en la judía Pinta). Las diferencias de tamaño que presentan entre variedades de judías y garbanzos estudiados, son casi inapreciables. En las muestras crudas, los gránulos de almidón se caracterizan por contener cubiertas lisas donde se encuentran adheridos las proteínas o fragmentos de proteína que han sido destruidas durante la molienda previa para la preparación de las muestras. Estos resultados son similares a los encontrados en la bibliografía (Marconi y col., 2000; Sotomayor y col., 1999; Milán-Carrillo y col., 2000).

Figura 36. Imagen microestructural del garbanzo Sinaloa

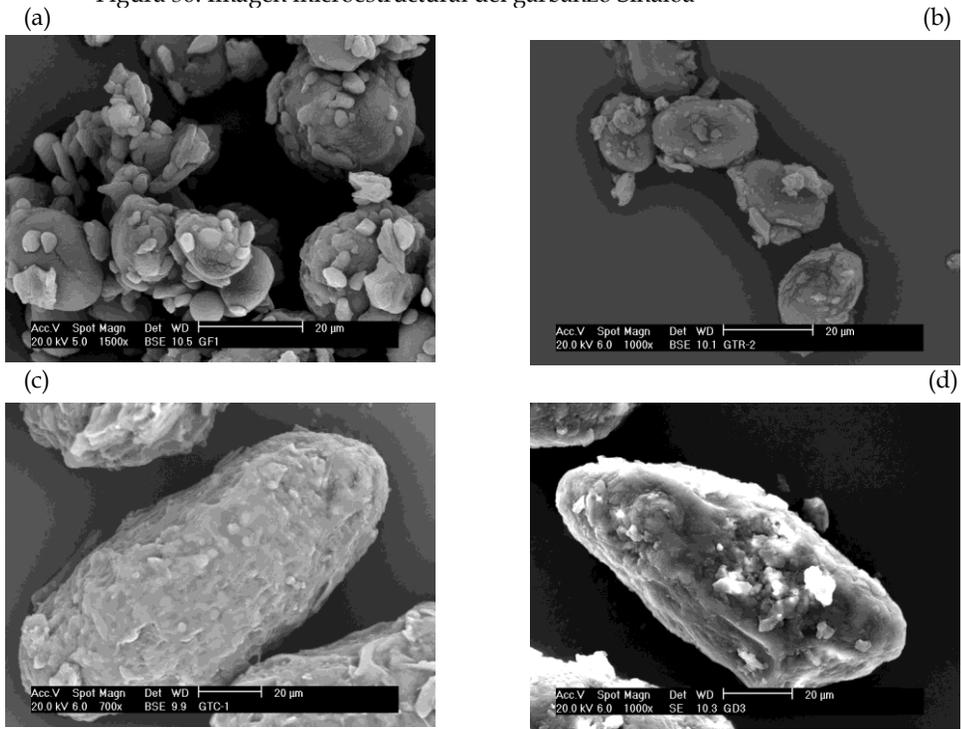


Figura 37. Imagen microestructural del garbanzo Castellano

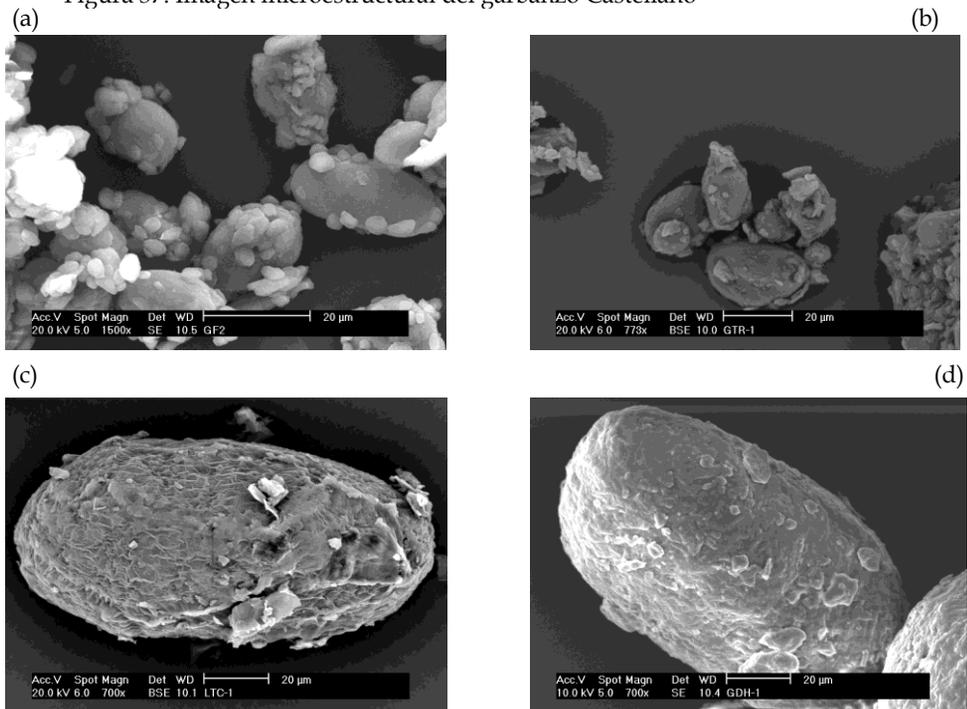


Figura 38. Imagen microestructural de la Judía Cannellini

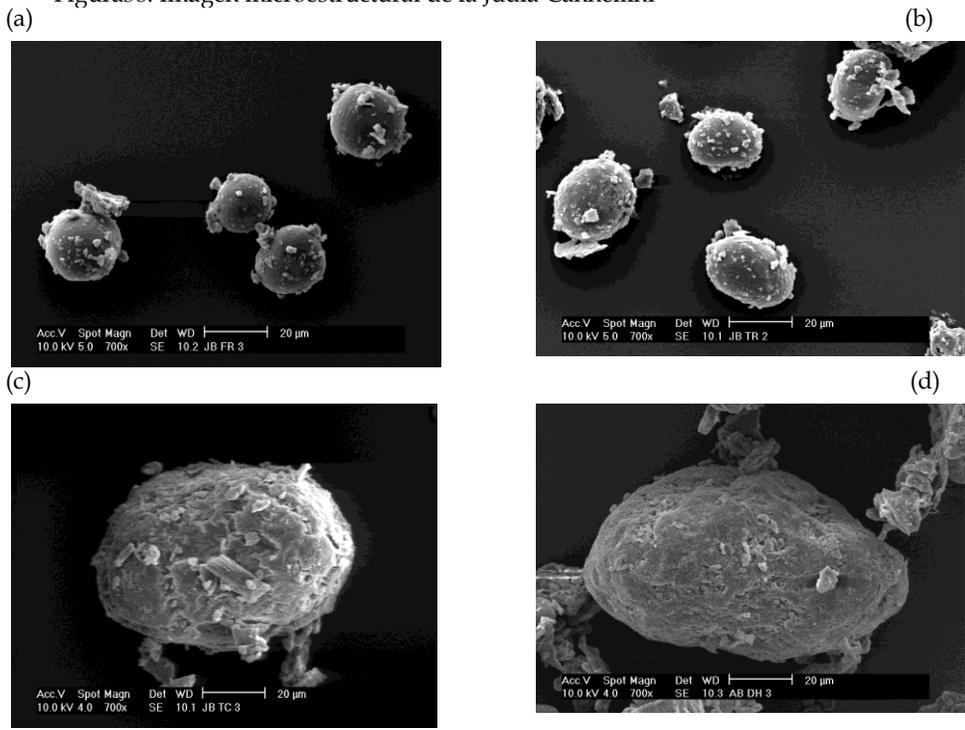


Figura 39. Imagen microestructural de la Judía Pinta

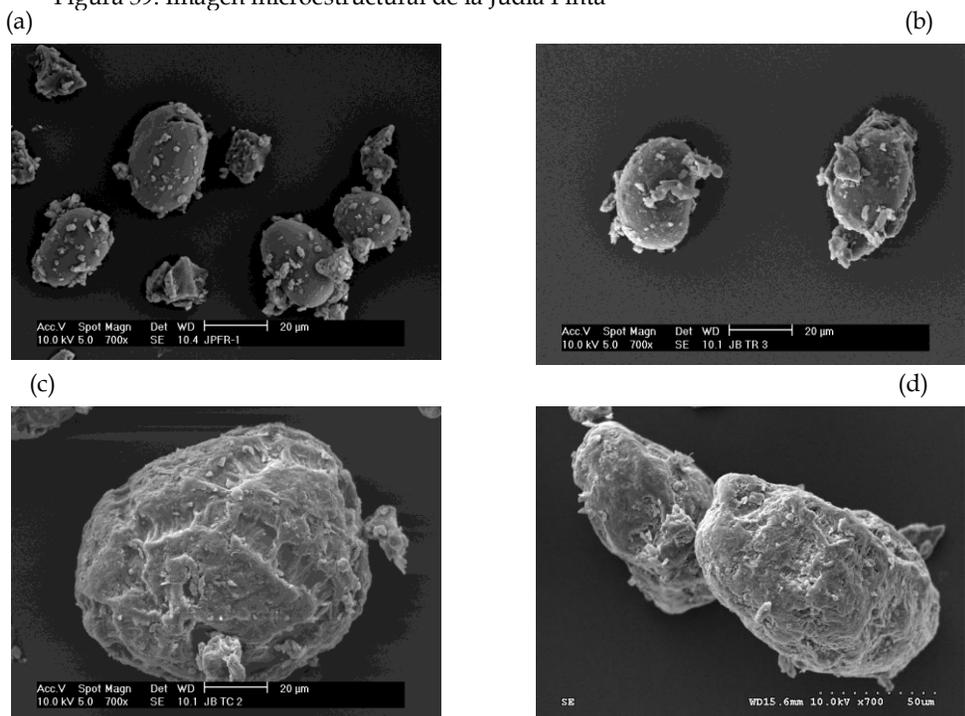


Figura 40. Imagen microestructural de la lenteja Pardina

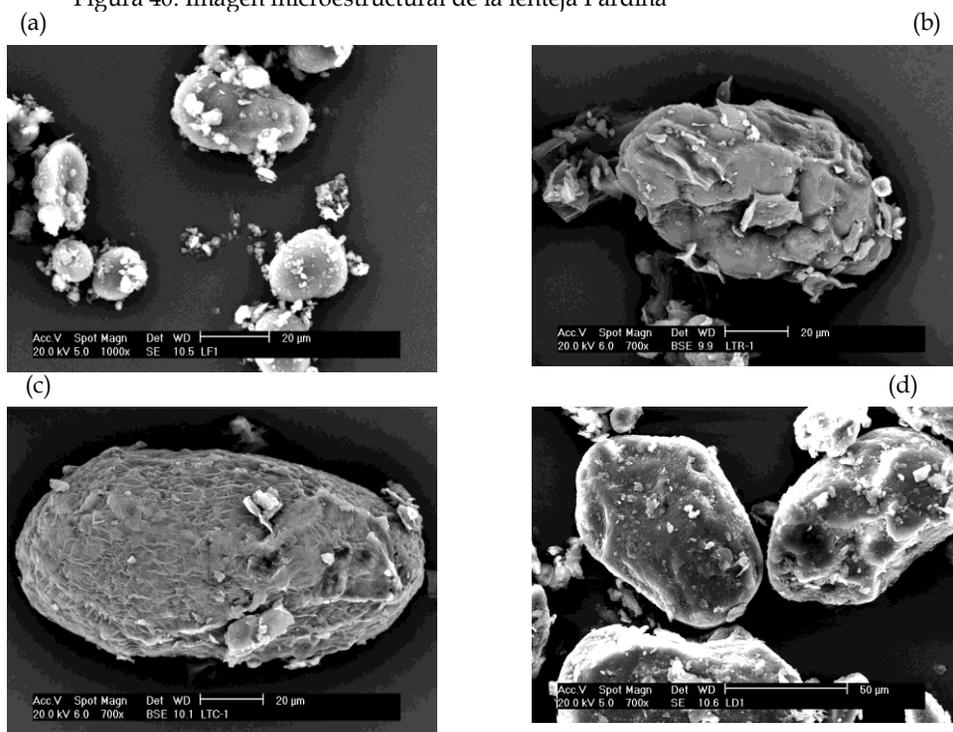


Fig. 36 (a, b, c, d) SEM de harina de garbanzo Sinaloa (a) crudo; (b) remojo; (c) remojo + cocción; (d) remojo + cocción + deshidratación.

Fig. 37 (a, b, c, d) SEM de harina de garbanzo Castellano (a) crudo; (b) remojo; (c) remojo + cocción; (d) remojo + cocción + deshidratación.

Fig. 38 (a, b, c, d) SEM de harina de judía Cannellini (a) crudo; (b) remojo; (c) remojo + cocción; (d) remojo + cocción + deshidratación.

Fig. 39 (a, b, c, d) SEM de harina de judía Pinta (a) crudo; (b) remojo; (c) remojo + cocción; (d) remojo + cocción + deshidratación.

Fig. 40 (a, b, c, d) SEM de harina de lenteja Pardina (a) crudo; (b) remojo; (c) remojo + cocción; (d) remojo + cocción + deshidratación.

Los cambios morfológicos producidos durante el procesado térmico van ser distintos dependiendo del tipo de muestra que estemos analizando. En el caso de las judías y garbanzos que han sido sometidos al remojo, apenas se observan cambios acusados en el tamaño de los gránulos de almidón, sin embargo la apariencia de dichos gránulos en las judías resulta más esférica que en el garbanzo, que presenta un aspecto más ovalado. Cuando la lenteja se somete a remojo, vemos que el almidón triplica su tamaño respecto a la muestra cruda (Figura 41, Tabla II, Anexo), además de presentar un aspecto más rugoso y erosionado. Esta variación de tamaño puede ser debida a que en la lenteja se produce un mayor hinchamiento de los gránulos. Además se aprecia una ligera disminución de cuerpos proteicos unidos al almidón en todas las legumbres analizadas, lo que sugiere una activación de las enzimas proteolíticas durante el remojo.

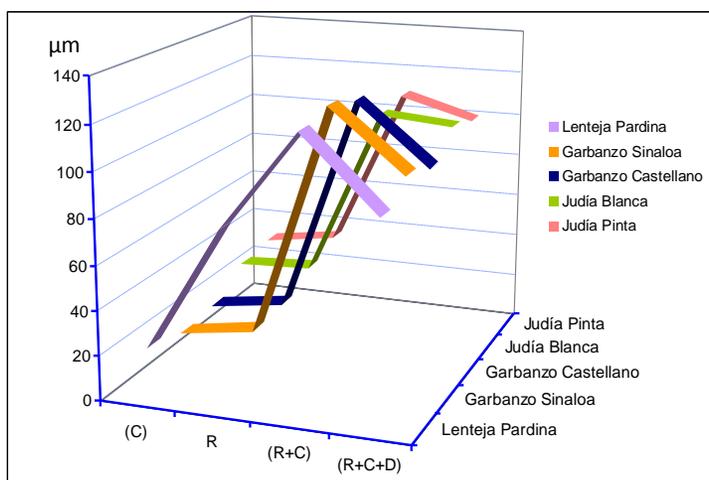


Figura 41. Evolución del tamaño del gránulo de almidón en muestras de leguminosas a lo largo del proceso de deshidratación (μm).

Las imágenes obtenidas después del proceso de cocción se muestran en las Figuras 24-28. Durante la cocción se produce un aumento del tamaño de los gránulos llegando a alcanzar tamaños de 125 μm en el caso del garbanzo Sinaloa. Los aumentos exhibidos llegan a representar 7 y 6 veces el tamaño que mostraban las muestras crudas de garbanzo Sinaloa y Castellano respectivamente. Las judías pierden la forma esférica que las caracterizaba durante las etapas previas, dando

lugar a gránulos más alargados. Los gránulos de almidón siguen manteniendo su integridad interna, sin embargo la superficie de la cubierta muestra un aspecto menos rugoso como consecuencia del calor. Las proteínas se encuentran más afectadas por el tratamiento térmico, siendo pocos los restos de proteínas que encontramos unidos todavía al almidón.

La deshidratación provoca reducciones apreciables del tamaño del gránulo si lo referimos a las muestras cocidas. Estos cambios no son significativos en las judías, mostrando reducciones muy ligeras de 3 y 9% en la judía Cannellini y Pinta respectivamente, mientras que en garbanzos y lenteja el tamaño de los gránulos de almidón de las muestras deshidratadas es considerablemente menor que el de las muestras cocidas. La superficie de la cubierta de los gránulos se presenta más lisa con apenas presencia de restos de proteína. Las diferencias que se muestran en la microestructura de las legumbres cocidas y deshidratadas están relacionadas con las fracciones de almidón previamente analizadas. La integridad que muestra el gránulo de almidón en las leguminosas cocidas y deshidratadas no se observa en otros tratamientos como fermentación o germinación, donde se produce la endocorrosión de los gránulos de almidón (Sotomayor y col., 1999) y la alteración de la estructura proteica (Blaszczak y col., 2007).

Conclusiones

Del estudio de la fracción de carbohidratos a lo largo de las etapas del proceso de deshidratación, se concluye que:

- La sacarosa, principal azúcar soluble presente en todas las legumbres estudiadas, ve disminuido su contenido a medida que se van sucediendo las distintas etapas del proceso;
- Los contenidos de fibra total encontrados son elevados, en comparación con otras legumbres y cereales, siendo los niveles de la fracción insoluble muy superiores a los de la fracción soluble. Con el proceso de deshidratación se observan incrementos en la fibra insoluble y, en general, una mejora de la relación fibra insoluble-fibra soluble;
- El almidón es el carbohidrato mayoritario presente en las harinas de las leguminosas estudiadas, presentando una importante fracción amilácea

resistente. Su biodisponibilidad va aumentando a medida que avanza el tratamiento térmico, provocando una mejora de su digestibilidad;

- La información que proporcionan las imágenes de microscopía electrónica de barrido revelan acusadas variaciones de tamaño y aspecto del gránulo del almidón y su disposición junto a las fracciones proteicas.

CAPITULO 5: ESTUDIO DE LA FRACCIÓN PROTEICA EN LAS HARINAS PROCESADAS

Interés del Estudio

Como se ha indicado anteriormente, las legumbres resultan una excelente fuente de proteína vegetal, ya que presentan un contenido promedio de 23% m.s.

La calidad de las proteínas viene determinada por sus propiedades nutritivas y funcionales, ya que se trata de un componente que va a influir decisivamente en las transformaciones que tienen lugar en el alimento durante su procesado, almacenamiento, preparación y consumo.

Cuando las proteínas se someten a altas temperaturas se produce su desnaturalización, seguida de una agregación molecular, que va a afectar a su solubilidad. Además de los cambios conformacionales que ocurren durante el procesado tienen lugar interacciones (propiedades de asociación-disociación) con otras moléculas que se verán afectadas por el pH del medio.

Por lo tanto, un estudio exhaustivo de la solubilidad (en distintos medios y a distintos pHs) y de la digestibilidad de la proteína, nos ayudaría a entender en gran medida parte de los cambios estructurales y de composición que se producen como consecuencia del procesado de las legumbres.

Métodos Analíticos

Determinación de la Solubilidad del Nitrógeno en un intervalo de pH

La solubilidad del nitrógeno se determinó según el método de Were y col. (1997). 125 mg de muestra se dispersaron en 25 mL de agua desionizada y a continuación se ajustó el pH a 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0 y 12,0 con una disolución de NaOH ó HCl 0,1N. La muestra se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente y se centrifugó a 6000 rpm durante 30 minutos. La medida del contenido de nitrógeno en el sobrenadante se realizó según el método Kjeldahl (AOAC, 1990), y el porcentaje de proteína soluble se calculó según la siguiente expresión:

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Cantidad de Nitrógeno en el sobrenadante}}{\text{Cantidad de Nitrógeno en la muestra}}$$

Determinación de la Solubilidad en H₂O y SDS

De todo el contenido de nitrógeno presente en una muestra, tan sólo una parte es soluble. El porcentaje de nitrógeno insoluble es significativo pero varía de una variedad a otra, así como de una leguminosa a otra. Asimismo, este contenido total de nitrógeno engloba tanto al procedente de proteínas (N-proteico) como aquél que pertenece a otras estructuras nitrogenadas no proteicas tales como alcaloides, amidas,... Por tanto, es importante distinguir entre N-Proteico y no Proteico, y entre N-Soluble e Insoluble, ya que las características fisicoquímicas y tecnofuncionales de las harinas dependen de estos parámetros.

Procedimiento 1: Solubilidad en agua

1 g de muestra se dispersó en 10 mL con agua destilada a 4 °C durante 16 horas. Posteriormente se centrifugó a 6000 rpm durante 20 minutos y se decantó el sobrenadante resultante (Sobrenadante 1). El residuo (Residuo 1) se volvió a extraer dos veces más con agua destilada. Las proteínas contenidas en el sobrenadante 1 se precipitaron con una solución de ácido tricloroacético (TCA) (50 g/L) a 1 °C durante toda la noche. A continuación, se realizó una centrifugación a 6000 rpm durante 20 minutos, obteniendo el Residuo 2 y el Sobrenadante 2. Se determinó el contenido de nitrógeno del Sobrenadante 2 (Nitrógeno no proteico), en el Residuo 2 (Nitrógeno proteico) y en el Residuo 1 (N insoluble) según el método Kjeldahl (AOAC, 1990).

Procedimiento 2: Solubilidad en SDS

1 g de muestra se dispersó en 10 mL con SDS (dodecil-sulfato de sodio)(20 g/L) a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se realizó una centrifugación a 6000 rpm durante 20 minutos. El contenido de nitrógeno en el extracto soluble en SDS y en el residuo insoluble fueron determinados según el método Kjeldahl (AOAC, 1990).

Determinación de la Digestibilidad Proteica "in vitro"

La digestibilidad *in vitro* de las muestras se determinó según el método pH-stat desarrollado por Pedersen y Eggum (1983).

Preparación de la disolución multienzimática

Se prepara una disolución de tres enzimas, conteniendo 23.100 unidades de tripsina (T-0134, Sigma-Aldrich, Alemania), 186 unidades de quimotripsina (C-4129, Sigma-Aldrich, Alemania) y 0,052 unidades de peptidasa (P-7500, Sigma-Aldrich, Alemania) por mililitro. La disolución se ajusta y se mantiene a pH 8,0 a 37 °C durante dos minutos. La disolución se congela a - 20 °C para mantener su actividad.

Determinación de la digestibilidad de caseinato sódico

La actividad de la disolución multienzimática se determina diariamente utilizando como patrón una suspensión acuosa de caseinato sódico (C-8654, Sigma-Aldrich, Alemania) de concentración 1 mg de nitrógeno por mL. Para ello, se pesa la cantidad necesaria de caseinato sódico y se añade, con 10 mL de agua destilada, a la célula de valoración termostaticada a 37 °C, ajustando el pH a 8,0 y manteniendo los valores de pH y temperatura durante 10 minutos. Seguidamente, se comienza la valoración automática, mediante el método de pH-stat, añadiendo 1 mL de la disolución multienzimática (pH final 7,98 y disolución valorante NaOH 0,1 N). El volumen de NaOH 0,1 N añadido para mantener el pH constante, se usa para calcular la digestibilidad verdadera (DV), aplicando la siguiente ecuación:

$$\%DV = 76,28 + 40,74B$$

Donde:

B= mL de NaOH 0,1 N

El valor de digestibilidad del caseinato sódico debe estar comprendido entre 98-102% (McDonough y col., 1990).

Determinación de la digestibilidad proteica de las muestras

Se pesa, por triplicado, una cantidad de muestra que contenga 10 mg de nitrógeno y se suspende en 10 mL de agua destilada en la célula de valoración. Una vez se estabiliza la temperatura a 37 °C, se ajusta y se mantiene el pH a 8,0 durante 10 minutos. Se añade 1 mL de la disolución multienzimática y se comienza la valoración automática (pH final 7,98, disolución valorante NaOH 0,1 N). Transcurridos los 10 minutos se registra el volumen de NaOH 0,1 N añadido y este

valor se utiliza para determinar la digestibilidad *in vitro* mediante la ecuación indicada.

El valor de digestibilidad obtenido se corrige con el calculado para el caseinato sódico, según la siguiente expresión (McDonough y col., 1990):

$$\%DV \text{ muestra} = (\%DV \text{ experimental muestra} / \% DV \text{ caseinato}) \times 100$$

Las valoraciones se realizaron con un valorador automático (Methrom, Tritino721) equipado con una unidad intercambiable de 10 mL y una célula de titulación termostaticada.

Resultados y Discusión

Solubilidad del Nitrógeno en un intervalo de pH

La solubilidad del nitrógeno en muestras crudas y deshidratadas de las harinas de leguminosas está representada en las Figuras 42, 43 y 44. La solubilidad del nitrógeno cambia según el valor del pH en el que se encuentre el alimento, por lo tanto resulta interesante observar las variaciones que dicha solubilidad experimenta a lo largo de una escala de pHs (valores comprendidos entre 2-10). El pH donde la solubilidad del nitrógeno es mínima difiere según la legumbre; en el caso del garbanzo Sinaloa, la lenteja Pardina y la judía Pinta se observa un mínimo a un pH 3, mientras que el garbanzo Castellano y la judía Cannellini lo muestran a pH 4. Los valores de solubilidad proteica que alcanzan en ese mínimo varían desde el 15% en el caso del garbanzo Castellano hasta el 38% en la judía Cannellini, resultados similares se encontraron en la bibliografía (Carbonaro y col., 1997). El punto que exhibe una solubilización menor del nitrógeno corresponde al punto isoeléctrico de la mayoría de proteínas (Soetrisno y Holmes, 1992). A pHs neutros se aprecian valores mayores de solubilidad proteica en todas las legumbres, llegando a niveles en torno al 80%, excepto en el caso del garbanzo Castellano que solamente alcanza una solubilidad del 54%. A medida que nos acercamos a pHs básicos la solubilidad de la proteína va aumentando tendiendo a estabilizarse a pHs de 11-12, donde la mayoría de las legumbres exhibe valores $\cong 90\%$.

Figura 42. Efecto del pH sobre la solubilidad de las harinas de Garbanzo Sinaloa y Garbanzo Castellano.

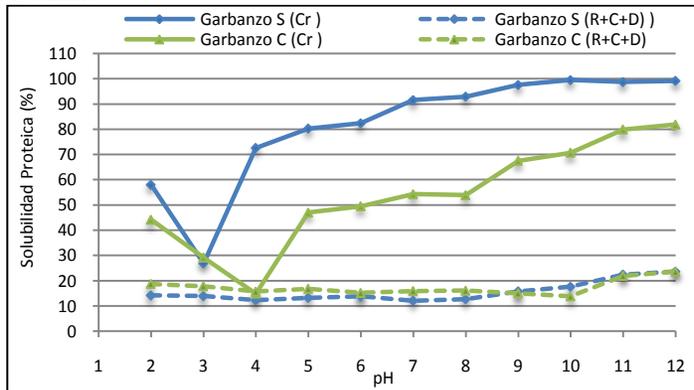


Figura 43. Efecto del pH sobre la solubilidad de las harinas de lenteja Pardina.

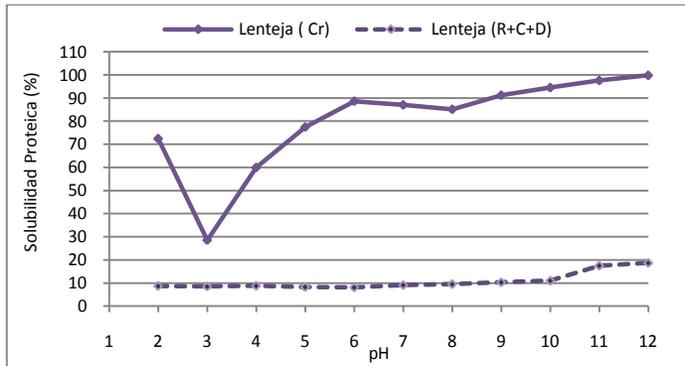
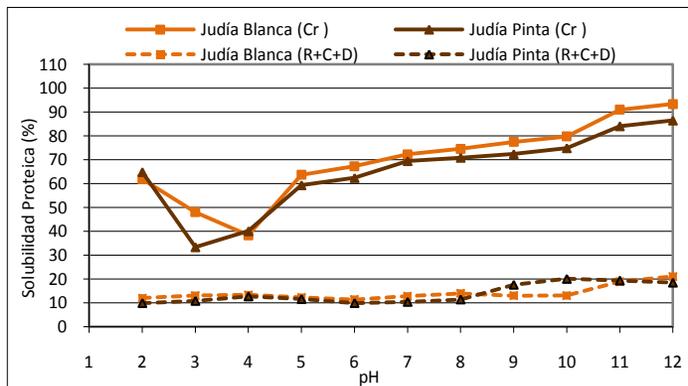


Figura 44. Efecto del pH sobre la solubilidad de las harinas de Judía Cannellini y Judía Pinta.



Abreviaturas: (Cr) = Muestras crudas; (R+C+D) = Muestras remojadas, cocidas y deshidratadas.

La solubilización proteica de las harinas de leguminosas crudas a diferentes pHs en agua resultó similar a otros perfiles encontrados en la bibliografía, tales como judías comunes (Naranyana y Rao, 1982), soja (Mc Watters y Holmes, 1979) y judías pintas (Carnovale y col., 1988). Varios autores justifican el aumento de la solubilización de la proteína por el alto contenido de aminoácidos aspártico y glutámico, que se caracterizan por tener puntos isoeléctricos ácidos, lo que las hará más solubles en medios acuosos básicos (Sathe, 2002). El proceso de deshidratación trae consigo una acusada reducción de la solubilidad proteica (Figuras 42, 43 y 44), observándose valores muy similares (15-20%) en todo el intervalo de pHs estudiado. Esta reducción podría ser debida a la desnaturalización y consiguiente agregación de las proteínas como consecuencia del tratamiento térmico. La máxima solubilidad (\cong 20%) se alcanza a pHs básicos. En literatura previa, se aprecia una marcada reducción de la solubilidad después de la cocción (Were y col., 1997; Carbonaro y col., 1997); estos valores bajos de solubilidad proteica que experimentan las proteínas pueden ser debidos a la desprotonación que sufren los aminoácidos arginina y lisina. Por lo tanto, el proceso térmico reducirá así el perfil de solubilidad de las proteínas, lo que afectará a sus aplicaciones en las formulaciones alimentarias.

Solubilidad en H₂O y SDS

Como consecuencia del interés que suscita la fracción proteica en las harinas de leguminosas se llevó a cabo un ensayo de solubilidad en agua con el fin de observar la cantidad de compuestos nitrogenados fácilmente extraíbles. Asimismo, se realizó un ensayo de solubilidad en SDS, fuerte extractante que solubiliza compuestos nitrogenados que se encuentran poco y/o muy ligados a otros componentes de la matriz de las legumbres. Estos ensayos complementan el estudio de solubilidad a diferentes pHs.

En relación al ensayo de solubilidad en agua se observa una solubilización de compuestos nitrogenados de 36-52% del nitrógeno total en harinas crudas siendo los garbanzos los que presentan mayor porcentaje, seguido de la lenteja Pardina y ambas judías (Tabla 34). El nitrógeno soluble en agua se corresponde principalmente con aminoácidos libres y la fracción proteica de las albúminas.

Tabla 34. Contenido de nitrógeno soluble en agua en muestras de leguminosas crudas y procesadas (mg N / g m. s.).

Legumbre	N-Soluble			N-Insoluble
	N-no Proteico	N Proteico	N-Soluble Total	
Garbanzo Sinaloa				
Cr	6,1 ± 0,4 ^c	7,0 ± 0,4 ^b	13,2 ± 0,7 ^c	12,3 ± 0,8 ^a
R	3,9 ± 0,2 ^b	7,2 ± 0,5 ^b	11,2 ± 0,8 ^b	13,5 ± 0,8 ^a
R+C	3,6 ± 0,3 ^b	5,7 ± 0,5 ^a	9,3 ± 0,7 ^a	18,3 ± 1,2 ^b
R+C+D	2,6 ± 0,1 ^a	7,9 ± 0,6 ^b	10,5 ± 0,6 ^a	19,6 ± 1,7 ^b
Garbanzo Castellano				
Cr	7,2 ± 0,3 ^c	8,3 ± 0,5 ^b	15,5 ± 0,6 ^c	14,0 ± 0,7 ^a
R	4,5 ± 0,1 ^b	7,7 ± 0,3 ^b	12,2 ± 0,8 ^b	15,1 ± 0,9 ^a
R+C	4,0 ± 0,4 ^b	6,3 ± 0,3 ^a	10,3 ± 0,7 ^a	19,4 ± 0,8 ^b
R+C+D	3,0 ± 0,2 ^a	8,9 ± 0,4 ^b	11,9 ± 0,4 ^b	21,5 ± 1,4 ^b
Lenteja Pardina				
Cr	4,4 ± 0,3 ^c	9,3 ± 0,5 ^c	13,8 ± 0,9 ^c	19,8 ± 1,5 ^a
R	1,7 ± 0,2 ^b	5,2 ± 0,3 ^b	6,9 ± 0,4 ^b	24,9 ± 1,9 ^b
R+C	0,9 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,3 ^a	3,3 ± 0,3 ^a	30,1 ± 1,9 ^c
R+C+D	0,8 ± 0,1 ^a	2,8 ± 0,2 ^a	3,6 ± 0,3 ^a	34,3 ± 2,4 ^c
Judía Cannellini				
Cr	4,9 ± 0,3 ^b	7,3 ± 0,4 ^b	12,2 ± 0,7 ^c	21,5 ± 1,5 ^a
R	2,9 ± 0,2 ^a	7,0 ± 0,3 ^b	9,9 ± 0,8 ^b	22,2 ± 1,5 ^a
R+C	2,8 ± 0,3 ^a	5,2 ± 0,3 ^a	8,0 ± 0,6 ^a	20,2 ± 1,3 ^a
R+C+D	2,4 ± 0,1 ^a	4,4 ± 0,5 ^a	6,8 ± 0,7 ^a	21,4 ± 1,6 ^a
Judía Pinta				
Cr	4,7 ± 0,2 ^c	7,5 ± 0,5 ^a	12,1 ± 0,8 ^b	17,7 ± 1,1 ^a
R	2,6 ± 0,3 ^b	8,3 ± 0,5 ^a	10,9 ± 0,8 ^b	15,7 ± 0,9 ^a
R+C	2,3 ± 0,1 ^b	6,5 ± 0,7 ^a	8,8 ± 0,9 ^a	19,4 ± 1,5 ^a
R+C+D	1,7 ± 0,3 ^a	6,3 ± 0,5 ^a	8,1 ± 0,7 ^a	18,7 ± 1,6 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Están.d.ar ($n = 6$).

La precipitación del sobrenadante (N-soluble) con TCA nos permite evaluar el contenido de proteína soluble en agua (fracción de albúminas) en dichas leguminosas. Los resultados obtenidos (Tabla 34) muestran que en las harinas crudas el porcentaje de estas proteínas respecto del N-soluble total es similar en todas las muestras, oscilando entre 53% en el caso de los garbanzos, 41% en judía Pinta y lenteja Pardina y 37% en la judía Cannellini (Figura 45).

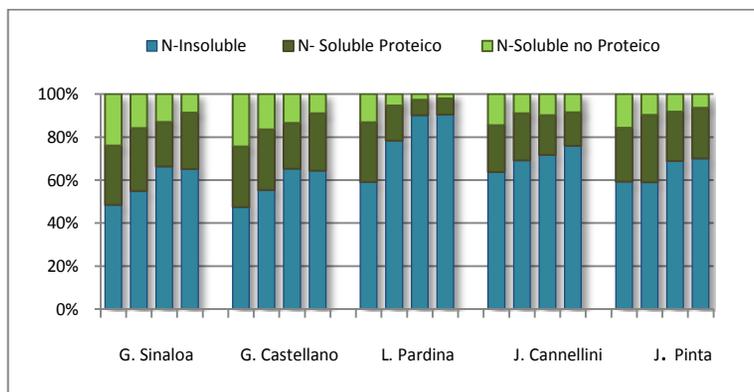


Figura 45. Contenido de nitrógeno soluble en agua en muestras de leguminosas crudas y procesadas. (1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Las harinas sometidas a remojo, cocción y deshidratación muestran un comportamiento generalizado de descenso en el contenido de N-soluble total, siendo más acusado en las muestras sometidas a los tratamientos térmicos (cocción y deshidratación) y, consecuentemente, los niveles de N-insoluble aumentan. No obstante, los niveles de proteína encontrados en harinas cocidas y deshidratadas son similares a los encontrados por Gujska y Khan (1990) tras extrusión a alta temperatura realizada en distintas variedades de judías. Así, se observa que las harinas procesadas de lenteja Pardina son las que exhiben los menores niveles de N-soluble (74 y 76% de descenso en muestras cocidas y deshidratadas, respectivamente) con el consiguiente aumento de N-insoluble en el residuo. A continuación se encuentran las judías Cannellini y Pinta (44 y 33% de reducción, respectivamente) seguidos de los garbanzos Castellano y Sinaloa (23 y 20% de reducción, respectivamente).

Tabla 35. Contenido de nitrógeno soluble en SDS en muestras de leguminosas crudas y procesadas (mg N/g m. s.).

Legumbre	Soluble N-SDS	Insoluble N-SDS
Garbanzo Sinaloa		
Cr	23,3 ± 2,2 ^a	7,6 ± 0,6 ^a
R	21,4 ± 2,3 ^a	6,6 ± 0,5 ^a
R+C	18,5 ± 1,5 ^a	11,2 ± 1,1 ^b
R+C+D	20,9 ± 1,8 ^a	11,4 ± 0,8 ^b
Garbanzo Castellano		
Cr	24,6 ± 2,4 ^a	8,5 ± 0,9 ^b
R	23,0 ± 1,9 ^a	7,0 ± 0,5 ^a
R+C	20,1 ± 1,9 ^a	13,0 ± 0,7 ^c
R+C+D	21,3 ± 1,7 ^a	13,0 ± 1,2 ^c
Lenteja Pardina		
Cr	29,6 ± 2,5 ^a	3,0 ± 0,4 ^a
R	25,4 ± 2,2 ^a	5,5 ± 0,4 ^b
R+C	23,3 ± 2,2 ^a	10,9 ± 0,9 ^c
R+C+D	20,6 ± 2,1 ^a	10,4 ± 0,7 ^c
Judía Cannellini		
Cr	25,2 ± 2,1 ^a	5,3 ± 0,3 ^a
R	21,8 ± 2,1 ^a	5,3 ± 0,3 ^a
R+C	19,7 ± 2,0 ^a	6,7 ± 0,7 ^b
R+C+D	18,4 ± 1,7 ^a	8,4 ± 0,6 ^c
Judía Pinta		
Cr	24,9 ± 2,2 ^a	4,8 ± 0,3 ^a
R	22,6 ± 1,8 ^a	5,0 ± 0,5 ^a
R+C	19,9 ± 1,8 ^a	5,7 ± 0,3 ^a
R+C+D	19,3 ± 1,9 ^a	5,8 ± 0,3 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).
 Valor Medio ± Desviación Están.d.ar (n = 6).

Como era de esperar, el ensayo de SDS (Tabla 35) exhibe mayores contenidos de N soluble, respecto al solubilizado en agua, tanto en harinas crudas como procesadas debido a la gran capacidad extractante del SDS (condiciones desnaturalizantes). Los resultados obtenidos con la extracción con SDS corroboran el comportamiento observado en el ensayo de solubilidad en agua. La lenteja Pardina es la legumbre que experimenta un mayor descenso de compuestos nitrogenados solubles durante el tratamiento térmico (30%) y por tanto refleja un mayor incremento del N-insoluble (Figura 46). A continuación se encuentran las judías Cannellini y Pinta (27 y 22%, respectivamente) y por último son los garbanzos Castellano y Sinaloa los que menores ascensos presentan (13 y 10%, respectivamente).

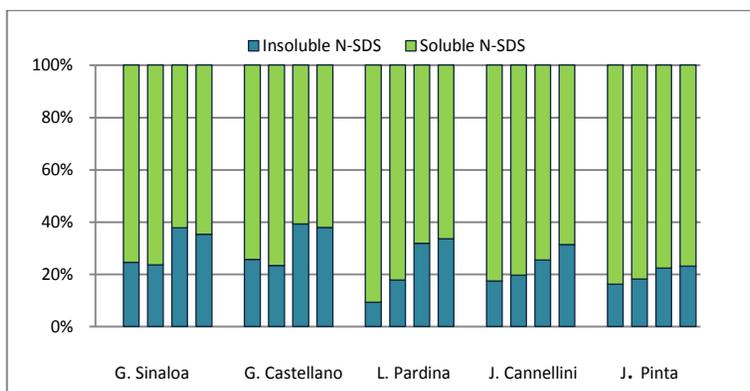


Figura 46. Contenido de nitrógeno soluble en SDS en muestras de leguminosas crudas y procesadas.

(1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

No sólo las interacciones electrostáticas entre los residuos cargados externamente son las principales fuerzas responsables de la baja solubilidad proteica de las leguminosas procesadas, sino también otras fuerzas moleculares (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas) podrían estar implicadas en la agregación de los componentes proteicos como se observa cuando la desnaturalización térmica tiene lugar.

En general, tanto el perfil de la fracción nitrogenada soluble en agua como en SDS pone de manifiesto una evidente pérdida de componentes nitrogenados solubles, con la consiguiente insolubilización de compuestos (Figura 47).

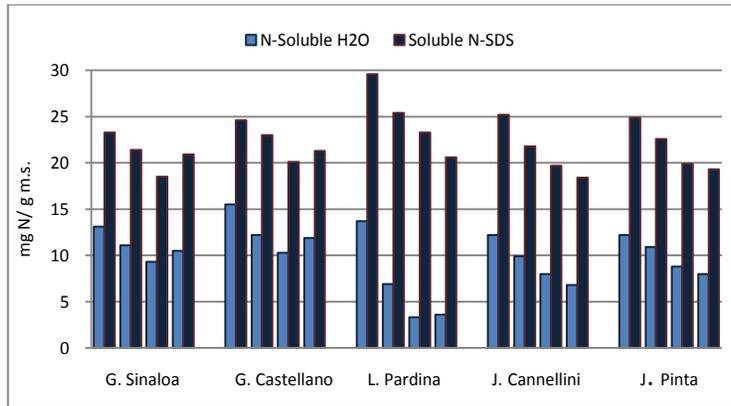


Figura 47. Solubilidad de nitrógeno en H₂O y SDS en muestras de leguminosas crudas y procesadas.

(1^a columna, Cr; 2^a columna R; 3^a columna R+C; 4^a columna R+C+D).

Estos resultados corroboran los encontrados por Carbonaro y col. (1993, 1997) poniéndose de manifiesto la disociación de compuestos de alto peso molecular (albúmina y globulina) en harina de judía procesadas y la posterior agregación de compuestos insoluble formados por interacciones hidrofóbicas y puentes de hidrógeno.

Digestibilidad Proteica "in vitro"

En la Tabla 36 se pone de manifiesto cómo el procesado de las harinas puede influir en la digestibilidad de la proteína (DP). Los resultados muestran que los valores más bajos de DP en las legumbres crudas se dan en la judía Cannellini y los más altos en el garbanzo Sinaloa. Durante y Guis (1997) han publicado resultados similares en judías comunes acerca de la digestibilidad proteica en leguminosas. Durante el remojo no se producen aumentos significativos de los valores de digestibilidad proteica, corroborando los resultados de trabajos publicados recientemente (In-Hwa-Han y col., 2007). El proceso de cocción supuso aumentos de los valores de digestibilidad (del 7 al 12%), incrementos similares a los publicados previamente (Clemente y col., 1998; Rehman y Shah, 2005. Tras el proceso de deshidratación se observan nuevos aumentos (hasta 12-15% respecto a muestras crudas) de los niveles de digestibilidad proteica en todas las legumbres. Por lo tanto, las harinas deshidratadas de legumbres exhiben mayores valores de DP que

los obtenidos en otras legumbres procesadas por distintos tratamientos, como cocción, microondas-cocción, ultrasonido o altas presiones hidrostáticas (Clemente y col., 1998; In-Hwa-Han y col., 2007; Khatoon y Prakash, 2004). Asimismo se han encontrado efectos similares aplicando tratamientos de extrusión, cocción a presión o autoclave (Alonso y col., 2000; El-Hady y col., 2003; Rehman y col., 2005).

Tabla 36. Influencia del procesado sobre la digestibilidad proteica (%) en harinas de leguminosas*.

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	81,1	80,0	85,0	79,1	79,6
R	81,2	81,0	85,5	79,9	80,0
R+C	89,7	85,7	91,7	88,6	89,2
R+C+D	90,9	90,8	95,5	90,0	91,3

*Los datos en paréntesis indican el porcentaje de incremento respecto a los valores de harinas crudas.

La mejora de la digestibilidad proteica que se observa tras el tratamiento térmico se atribuye a la desnaturalización que sufren las proteínas (favoreciendo la accesibilidad de las enzimas proteolíticas) y a la reducción o eliminación de distintos antinutrientes (Carnovale y col., 1988; Friedman, 1996). Existen muchos estudios acerca de las interacciones que tienen lugar entre las proteínas y el ácido fítico, los taninos condensados o los polifenoles en muestras sin procesar. Estas interacciones podrían incrementar el grado de unión de las cadenas que forman la proteína, disminuyendo así su solubilidad y dando lugar a complejos proteicos. Así, los enlaces peptídicos que forman los complejos proteicos tendrán un difícil acceso para ser atacados por las proteasas. Además, el proceso de deshidratación provoca cambios estructurales en la proteína, como es el caso de las globulinas, incrementando la flexibilidad de las cadenas y facilitando el ataque de las proteasas (Swaigood y Catignani, 1991). Sin embargo, algunos autores han detectado un descenso de la digestibilidad proteica como consecuencia de la aplicación de tratamientos térmicos, posiblemente debido a la agregación de residuos básicos de proteínas (Carbonaro y col., 1997).

Conclusiones

La determinación de los cambios en la digestibilidad y solubilidad proteica que experimentan las harinas de leguminosas en la deshidratación pone de manifiesto que:

- El perfil de solubilidad del nitrógeno en legumbres crudas muestra una mayor solubilidad a valores neutros de pH. Sin embargo, las muestras deshidratadas experimentan una reducción de la solubilidad proteica, manteniéndose constante en todo el intervalo de pH analizado;
- Las harinas de leguminosas presentan una mayor solubilidad en SDS que en agua, debido a la gran capacidad extractante de este detergente. La deshidratación trae consigo una pérdida de componentes nitrogenados solubles, tanto en la fracción soluble en agua como en SDS, con la consiguiente insolubilización de compuestos proteicos;
- Se produce una mejora de la digestibilidad proteica cuando las muestras se someten a un proceso de deshidratación, con la consiguiente mejora nutricional.

CAPITULO 6: EVALUACIÓN DE PROPIEDADES TECNO-FUNCIONALES DE LAS HARINAS PROCESADAS

Interés del Estudio

Identificar y mejorar las propiedades tecno-funcionales específicas de las harinas de las leguminosas es esencial para determinar los posibles usos de las mismas como ingredientes alimentarios. Las propiedades tecno-funcionales proporcionan información sobre cómo se comportaría un ingrediente en particular en la matriz de un alimento, desempeñan un papel destacado durante la preparación, elaboración y almacenamiento de los alimentos y, a su vez se correlacionan con las propiedades sensoriales. Dichas propiedades podrían ser consideradas como el resultado de los distintos cambios conformacionales o de las distintas interacciones que tienen lugar entre los componentes del alimento, tales como las interacciones entre proteínas, entre proteínas y polisacáridos, lípidos, compuestos fenólicos ó ácido fítico (Ismond y col., 1986; Patane y col., 2004). Una vez analizado el comportamiento de estos componentes en capítulos previos, podremos explicar cómo afectan a las propiedades tecno-funcionales de las leguminosas en cada una de las etapas del procesado.

Determinación del pH

La medida de pH en las muestras se determinó a partir de 10 g de harina de legumbres diluidos en 40 mL de agua desionizada a 100 °C, utilizando un pH-metro (510, Génesys) como instrumento de medida (AOAC, 1990).

Determinación de la Densidad Aparente (DA)

La densidad se determina mediante la compactación de la harina de las leguminosas en una probeta graduada (10 mL), pesada anteriormente, hasta conseguir el volumen de 5 mL.

El valor de la densidad se calcula según:

$$D = \frac{P_t - P_p}{5}$$

- Pt = peso total
- Pp = peso de la probeta
- D = densidad en g/mL

Determinación de la Capacidad de Retención de Aceite (CRAc)

A 1 g de muestra se le adicionan 10 mL de aceite de girasol y se mantiene en agitación durante 30 minutos. Posteriormente, se centrifuga a 4750 rpm durante 30 minutos. Después de centrifugar se mide el volumen del sobrenadante. Por diferencia entre el volumen inicial de aceite y el volumen recuperado, se determina la capacidad de retención de aceite expresada en mL/g (Chau y Huang, 2003).

Determinación de la Capacidad de Retención de Agua (CRA)

A 1 g de muestra, se le añaden 10 mL de agua destilada, y se mantiene en agitación durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo se centrifuga a 4750 rpm durante 30 minutos. Se mide el volumen del sobrenadante después de centrifugar. Por diferencia entre el volumen inicial de agua y el que se recupera después de la centrifugación, se determina la capacidad de retención de agua expresada en mL/ g (Chau y Huang, 2003).

Determinación de la Capacidad de Absorción de Agua (CA)

Se pesa 1 g de muestra y se le añaden 10 mL de agua destilada, y manteniéndose en agitación durante 1 h. Posteriormente las muestras se centrifugan a 4750 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante fue separado en una probeta graduada (10 mL) donde se midió su volumen y su peso (Beuchat, 1977).

Determinación de la Capacidad de Hinchamiento (CH)

Se pesan 100 mg de muestra en una probeta graduada (10 mL). Se llena la probeta con agua destilada hasta 10 mL, la muestra se dispersa agitando suavemente y se deja reposar durante 16 horas para lograr su hidratación. Transcurrido ese tiempo se mide el volumen final que ocupa la muestra (Robertson y col., 2000).

La capacidad de hinchamiento se expresa como:

$$\text{Capacidad de hinchamiento (mL/g)} = \text{Volumen final/masa muestra}$$

Determinación de la Capacidad Emulsionante (CEm)

Para analizar la capacidad emulsionante se pesa 1 g de muestra y se le añaden 20 mL de agua destilada y se agita. Se añaden 7 mL de aceite de maíz y nuevamente se vuelve a agitar. La muestra se centrifuga durante 1 hora a 3000 rpm. Para realizar la determinación de la capacidad emulsionante se realiza la medición de la capa emulsificada respecto al volumen total (Yasumatsu y col., 1972).

Determinación de la Capacidad Espumante (CE)

Para determinar esta propiedad se pesa 1 g de muestra y se adicionan 50 mL de agua. A continuación, se realiza una agitación en el homogenizador (Polytron) durante 5 minutos. La espuma resultante se transfiere a una probeta graduada (50 mL), donde se mide el volumen de espuma inicial y final después de 30 segundos (Bencini, 1986).

Determinación de la Capacidad de Gelificación

La capacidad de gelificación se define como la menor concentración de gelificación (MCG) a la que la muestra no se desliza por las paredes al invertir los tubos. Se preparan suspensiones de la muestra al 4, 8, 12, 13, 14, 16, 18 y 20% (p/v) en agua destilada. Para ello se pesan por duplicado 0,2; 0,4; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 y 1 g de muestra en tubos de ensayo, y se adicionan 5 mL de agua destilada en cada tubo. Se introducen en un baño de agua a 100 °C durante 1 hora y, a continuación, se ponen en un baño de hielo durante 1 hora (Chau y Cheung, 1998).

Resultados y Discusión

pH

La determinación de los valores de pH en las harinas de leguminosas es importante y necesario para conocer cómo afectan las variaciones del pH a algunas propiedades tecnofuncionales (relacionadas principalmente con las proteínas) como la solubilidad del nitrógeno y la capacidad emulsionante, que dependen en gran medida del pH del medio (Mc Watters y Cherry, 1977). Los valores de pH de las leguminosas objeto de estudio (Tabla 37) son muy similares en todas las legumbres crudas, produciéndose un incremento de dicho valor cuando las legumbres son

procesadas, debido probablemente a la solubilización de aminoácidos básicos. Los valores de pH en leguminosas crudas son similares a los encontrados por Chau y col. (1997) y Martín-Cabrejas y col. (1999) en judías comunes.

Tabla 37. Valores de pH en harinas de leguminosas durante el proceso de deshidratación industrial.

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	6,57± 0,10 ^a	6,45± 0,10 ^a	6,51± 0,15 ^a	6,64± 0,10 ^a	6,90± 0,10 ^a
R	7,15± 0,15 ^b	6,42± 0,10 ^a	7,38± 0,10 ^b	7,01± 0,15 ^b	7,05± 0,10 ^a
R+C	7,39± 0,20 ^b	6,81± 0,10 ^b	7,19± 0,10 ^b	7,21± 0,10 ^b	7,15± 0,10 ^a
R+C+D	7,05± 0,15 ^b	6,85± 0,15 ^b	7,03± 0,20 ^b	7,20± 0,15 ^b	7,25± 0,15 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Densidad Aparente (DA)

La densidad aparente (DA) de las harinas de leguminosas crudas muestra valores que oscilan entre 0,71 g/mL y 0,91 g/mL, valores similares a los observados en distintas variedades de garbanzos (Agrawal y Singh, 2003) y superiores a los publicados por otros autores en judías (Dzudie y Hardy, 1996; Seená y Sridhar, 2005). De los resultados obtenidos (Tabla 38), se desprende que las harinas de lenteja son significativamente más densas (0,91 g/mL) que el resto de las harinas analizadas, que presentan una DA de 0,71-0,84 g/mL.

El tratamiento térmico provoca ligeros incrementos no significativos en el valor de la densidad aparente en todas las leguminosas estudiadas, probablemente como consecuencia de la gelatinización parcial o completa de los gránulos de almidón.

Tabla 38. Efecto del procesado industrial sobre la densidad aparente de las harinas de leguminosas (g/mL).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	0,71 ± 0,05 ^a	0,74 ± 0,05 ^a	0,91 ± 0,05 ^a	0,84 ± 0,05 ^a	0,79 ± 0,05 ^a
R	0,74 ± 0,05 ^a	0,74 ± 0,05 ^a	0,91 ± 0,05 ^a	0,85 ± 0,05 ^a	0,85 ± 0,05 ^a
R+C	0,79 ± 0,06 ^a	0,79 ± 0,06 ^a	0,92 ± 0,05 ^a	0,85 ± 0,05 ^a	0,86 ± 0,05 ^a
R+C+D	0,81 ± 0,04 ^a	0,80 ± 0,04 ^a	1,02 ± 0,07 ^a	0,92 ± 0,07 ^a	0,89 ± 0,07 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

En las muestras de harinas de leguminosas se ha llevado a cabo un análisis de correlación lineal entre la densidad aparente y el contenido de almidón disponible a lo largo del proceso de deshidratación industrial (Tabla III, Anexo), revelando correlaciones destacadas en el caso de los garbanzos Sinaloa ($r = 0,96$, $P < 0,01$) y Castellano ($r = 0,92$, $P < 0,01$), y en menor medida en la judía Pinta ($r = 0,75$, $P < 0,5$) lo que sugiere una gran influencia de la fracción amilácea sobre la densidad aparente que muestran dichas harinas. Sin embargo en el resto de legumbres analizadas no se observaron correlaciones significativas entre la DA y el contenido de almidón disponible. Asimismo, el garbanzo Sinaloa es la legumbre que mayores incrementos de DA presenta tras el tratamiento de deshidratación industrial (14%), seguido de la judía Pinta y de la lenteja Pardina (13 y 12%, respectivamente), siendo esta última la leguminosa que mayores valores absolutos de densidad aparente presenta tras el tratamiento de deshidratación (1,02 g/mL). Estos resultados están de acuerdo con los incrementos de la DA que determinó Bencini (1986) en harinas de garbanzo que habían sido sometidas a cocción. Sin embargo, la aplicación de otros tratamientos tecnológicos como la germinación y la fermentación en guisantes, provoca acusadas reducciones en la densidad aparente (71 y 35%, respectivamente) (Giami y Okwechime, 1993). En resumen, esta propiedad resulta interesante para el envasado de legumbres ya que las leguminosas que presenten valores elevados de DA exhiben un menor volumen, facilitando así el uso y el transporte de las mismas (Dzudie y Hardy, 1996).

Capacidad de retención de Aceite (CRAC)

La CRAC es una importante propiedad físico-química para la elaboración de alimentos fritos, así como para la estabilidad en su almacenamiento debido a su influencia en el enranciamiento y el desarrollo del poder oxidativo. Estos dos últimos aspectos son de especial interés ya que determinan la aceptación del producto por parte del consumidor.

Tabla 39. Efecto del procesado industrial sobre la capacidad de retención de aceite de las harinas de leguminosas (g/mL).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	1,10 ± 0,10 ^a	1,10 ± 0,10 ^a	0,95 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,10 ^a	1,20 ± 0,10 ^a
R	1,00 ± 0,10 ^a	1,10 ± 0,10 ^a	0,90 ± 0,10 ^a	1,20 ± 0,10 ^a	1,15 ± 0,10 ^a
R+C	1,15 ± 0,10 ^a	1,10 ± 0,10 ^a	0,95 ± 0,10 ^a	1,15 ± 0,10 ^a	1,20 ± 0,10 ^a
R+C+D	1,15 ± 0,10 ^a	1,10 ± 0,10 ^a	0,90 ± 0,10 ^a	1,15 ± 0,10 ^a	1,15 ± 0,10 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar (n = 6).

En relación con esta propiedad (Tabla 39) se observan valores muy similares en todas las harinas de leguminosas estudiadas (0,95-1,20 mL/g). Los resultados obtenidos son menores que los observados en soja (1,93 mL/g) (Chau y col., 1997), pero superiores a los de harinas de guisantes (0,69 mL/g) (Prinyawiwatkul y col., 1997) y de judías (0,80 mL/g) (Granito y col., 2007). Las variaciones de la CRAC vienen determinadas por la presencia de cadenas laterales no polares de aminoácidos que se unen a las cadenas laterales hidrocarbonadas del aceite. Las judías Canellini y Pinta exhiben valores de CRAC distintos (1,00 y 1,20 mL/g, respectivamente). Estas ligeras variaciones encontradas dentro de una misma especie son debidas probablemente a la naturaleza y al tipo de proteínas que están presentes en las muestras (Sathe y Salunkhe, 1981). Las pequeñas reducciones experimentadas en el caso de la lenteja Pardina y de la judía Pinta después de la deshidratación podían deberse a la desnaturalización proteica, que conllevaría la agregación de los grupos hidrofóbicos, y por lo tanto, la unión de dichos grupos

hidrofóbicos libres con el aceite se vería reducida (Granito y col., 2007). No obstante, no se aprecian variaciones significativas una vez que las muestras han sido procesadas. Sin embargo, Granito y col. (2007) observaron apreciables reducciones tras el proceso de cocción en muestras de judías (33%), sin encontrar cambios significativos tras el tratamiento de deshidratación. Singh y Seetha (1993) atribuyen las principales variaciones de CRAC entre distintos aperitivos elaborados con diferentes leguminosas, al tamaño de la partícula de harina y al contenido de almidón y de proteína. Para determinar la posible relación existente entre la capacidad de retención de aceite y el contenido de almidón y proteína se ha realizado un análisis de regresión lineal (Tabla IV, Anexo), que revela correlaciones no significativas en las legumbres objeto de estudio, excepto en el caso del garbanzo Sinaloa que muestra una baja correlación entre la CRAC y la proteína ($r = 0,67$, $P < 0,1$) y la judía Cannellini entre la CRAC y la fracción de almidón disponible ($r = 0,70$, $P < 0,1$). Estos resultados no coinciden con lo revelado por otros autores (Singh y Seetha, 1993), lo que indica la baja influencia que el almidón disponible y la fracción proteica ejercen sobre la capacidad de retención de aceite, de las muestras empleadas en el presente estudio.

En general, estas harinas podrían ser un interesante ingrediente en productos destinados a ser fritos, debido a sus bajos valores de CRAC, se conseguiría una sensación del alimento menos grasa.

Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Los resultados de la capacidad de retención de agua (CRA) a temperatura ambiente y pH neutro en muestras crudas y procesadas se presentan en la Tabla 40. La imbibición de agua es una propiedad tecno-funcional muy importante en la preparación de alimentos como salchichas, salsas y masas. En estos alimentos, las proteínas retienen agua, pero no se disuelven debido a la insuficiente cantidad de agua. Por lo tanto, pueden gelificar e impartir características tales como dar consistencia a la matriz del alimento y espesar.

Tabla 40. Efecto del procesado industrial sobre la capacidad de retención de agua de las harinas de leguminosas (g/mL).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	2,10 ± 0,10 ^a	2,10 ± 0,10 ^a	3,20 ± 0,10 ^a	3,50 ± 0,10 ^a	2,70 ± 0,10 ^a
R	2,20 ± 0,10 ^a	2,30 ± 0,10 ^a	3,50 ± 0,20 ^a	3,50 ± 0,20 ^a	2,60 ± 0,20 ^a
R+C	4,80 ± 0,20 ^b	5,50 ± 0,20 ^b	4,70 ± 0,10 ^b	3,80 ± 0,10 ^b	2,50 ± 0,10 ^b
R+C+D	4,90 ± 0,10 ^b	5,50 ± 0,10 ^b	4,80 ± 0,10 ^b	3,70 ± 0,10 ^b	3,00 ± 0,10 ^b

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Los valores obtenidos de CRA en las leguminosas objeto de estudio muestran que la lenteja y la judía Cannellini son las muestras que presentan mayor capacidad de retención de agua (3,20 y 3,50 mL/g respectivamente). Estos resultados son similares a los encontrados en la bibliografía (Jood y col., 1998; Dzudie y col., 1996). Sin embargo, el resto de leguminosas (garbanzo Sinaloa, Castellano y judía Pinta) exhiben niveles inferiores y similares entre sí (2,10-2,70 mL/g). La distinta estructura proteica y la presencia de diferentes carbohidratos hidrofílicos podrían ser los responsables de las variaciones observadas en las harinas estudiadas tal como sugiere Adebawale y Lawal (2004).

La cocción y el proceso industrial de deshidratación de leguminosas (R+C+D) provoca en todos los casos un aumento de dicha propiedad funcional, siendo más acusada en los garbanzos, principalmente el garbanzo Castellano, aumentando del orden de 2,6 veces el valor en crudo, y llegando a niveles de 5,5 mL/g de CRA. Es de destacar que es la etapa de cocción la que conlleva mayores incrementos de dicha propiedad, manteniéndose los niveles muy similares o iguales en la etapa de deshidratación. Probablemente este aumento pueda ser debido a la disociación de la proteína, lo que provoca que un mayor número de moléculas de agua se una a los restos polares de las cadenas polipeptídicas. Se ha realizado un análisis de correlación lineal entre la capacidad de retención de agua y la proteína a lo largo del proceso de deshidratación industrial (Tabla V, Anexo), reflejando excelentes correlaciones en el caso de la lenteja Pardina ($r = 0,94$, $P < 0,01$) y menos destacadas

en el garbanzo Sinaloa ($r = 0,85$, $P < 0,05$); el resto de legumbres analizadas exhibe relaciones no significativas entre la CRA y la proteína. Además de las proteínas, existen otros componentes no proteicos como los carbohidratos, que aumentan esta capacidad, tales como el almidón, que se gelatiniza, y la fibra alimentaria (FA), que absorbe agua. El incremento de la fibra alimentaria y del almidón disponible que se produce en las harinas de las leguminosas durante la cocción (previamente estudiado), podría influir de manera muy decisiva en los valores de esta propiedad funcional. Las legumbres con fracciones amiláceas y contenidos notables en FA presentan mayores CRA (Paredes-López y col., 1991). Una vez establecidas las correlaciones entre la CRA y el almidón disponible y la fibra alimentaria en las muestras objeto de estudio, destaca la gran influencia que ambos componentes ejercen sobre esta propiedad tecno-funcional (Tabla V, Anexo). La fracción amilácea muestra elevadas correlaciones ($r = 0,97$, $P < 0,01$) en el caso de la lenteja Pardina, ($r = 0,93$, $P < 0,01$) en el garbanzo Castellano y ($r = 0,90$, $P < 0,01$) en el garbanzo Sinaloa. Similares correlaciones se han observado entre la CRA y los contenidos de fibra total, ($r = 0,95$, $P < 0,01$) en el garbanzo Castellano, ($r = 0,93$, $P < 0,01$) en la lenteja Pardina y ($r = 0,85$, $P < 0,05$) en el garbanzo Sinaloa. Al igual que sucedía cuando se establecía la relación entre la CRA y las proteínas, no se han observado correlaciones no significativas entre la CRA y la FT y el almidón disponible en el caso de las judías (Tabla V, Anexo). A la vista de los resultados, el análisis de correlación lineal establecido entre la capacidad de retención de agua y los distintos componentes alimentarios muestra que la fracción amilácea y la fibra alimentaria ejercen en general una mayor influencia sobre la CRA que la proteína.

Cabe destacar el papel que ejerce la CRA en la textura de productos cárnicos, confiriéndoles propiedades de consistencia, viscosidad y adhesión, por lo que se podrían utilizar las harinas de las leguminosas estudiadas en la preparación de productos cárnicos como salchichas o análogos de carne.

Capacidad de Absorción de Agua (CA)

La capacidad de absorción de agua (CA) representa la habilidad de un alimento para asociarse con el agua durante la adición gradual de la misma en su preparación. La CA en las harinas crudas, muestra valores medios $\cong 2,2$ mL/g,

excepto en el caso del garbanzo Castellano que presenta una baja capacidad de absorción de agua (1,0 mL/g) (Tabla 41), dos veces inferior al resto de legumbres estudiadas. Las variaciones que se exhiben entre las distintas muestras pueden ser debidas a la presencia de diferentes tipos de carbohidratos hidrofílicos y de estructuras proteicas. Estos resultados son inferiores a los encontrados en la bibliografía si los comparamos con variedades de judías comunes (3,0 mL/g) pero similares a los valores de frijoles verdes (2,1 mL/g) (Dzudie y Hardy, 1996). Adebowale y Lawal (2004) encontraron una mayor tendencia hidrofílica en judías Canavalia (5,1 mL/g), seguido de Mucuna (2,3 mL/g) y de Bambara (2,0 mL/g).

Tabla 41. Efecto del procesado industrial sobre la capacidad de absorción de agua de las legumbres objeto de estudio (g/mL).

	Garbanzo Sinaloa	Garbanzo Castellano	Lenteja Pardina	Judía Cannellini	Judía Pinta
Cr	2,20 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,10 ^a	1,80 ± 0,10 ^a	2,20 ± 0,10 ^a	2,70 ± 0,10 ^a
R	2,20 ± 0,10 ^a	1,00 ± 0,10 ^a	2,30 ± 0,10 ^b	2,30 ± 0,10 ^b	2,65 ± 0,10 ^b
R+C	3,20 ± 0,10 ^b	3,00 ± 0,10 ^b	3,10 ± 0,10 ^c	2,80 ± 0,10 ^c	2,70 ± 0,10 ^c
R+C+D	3,80 ± 0,20 ^c	3,10 ± 0,20 ^c	3,60 ± 0,20 ^d	2,80 ± 0,20 ^d	2,80 ± 0,20 ^d

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Sin embargo, una vez procesadas las muestras, el garbanzo Castellano experimenta incrementos del orden de tres veces, llegando a niveles prácticamente similares en todas las legumbres estudiadas a excepción del garbanzo Sinaloa que es la legumbre que mayor CA exhibe una vez que ha sido deshidratado (3,8 mL/g). Estos incrementos tras someter las leguminosas a cocción y deshidratación, son similares a los encontrados en la bibliografía, en el caso de judías (Sathe y col., 1982) y harinas de cacahuete (Singh y Singh, 1991). De nuevo, durante la cocción se va a producir una gelatinización de los gránulos de almidón, acompañado de una ruptura molecular, que va a dar lugar a pérdidas del nivel de cristalización y a un incremento de la capacidad de unirse al agua (Bemiller, 1997). Sin embargo, Granito y col. (2007) justifican los incrementos que se producen en la CA durante la cocción

no solo por la gelatinización del almidón, sino también como consecuencia de la absorción de agua por parte de la fibra alimentaria y de la disociación de proteínas, dando lugar a una mayor exposición de los grupos polares en las cadenas peptídicas, aumentando así la fijación de las moléculas de agua. Según Oshodi y Adeladun, (1993), legumbres con altos contenidos de fracciones amiláceas y de fibra presentan un mayor valor de CA. Esta relación de la fibra total y del almidón disponible con la CA se pone de manifiesto en las leguminosas estudiadas (Tabla VI, Anexo). Aumentos en la fracción disponible del almidón y en la fibra total durante el procesado industrial van a provocar aumentos en la capacidad de absorción, destacando las correlaciones observadas en el garbanzo Castellano entre la CA y la fibra total ($r = 0,95$, $P < 0,01$) y el almidón disponible ($r = 0,90$, $P < 0,01$). El garbanzo Sinaloa presenta una mayor correlación con la fibra total ($r = 0,92$, $P < 0,01$) que con el almidón disponible ($r = 0,84$, $P < 0,05$), lo que indica que la fibra presenta en este caso una mayor influencia en la capacidad de absorción de agua. El resto de legumbres analizadas presenta el mismo comportamiento, mostrando una mayor afinidad entre la CA y la fibra total, puesto que con la fracción amilácea se establece una correlación no significativa.

Capacidad de hinchamiento (CH)

La capacidad de hinchamiento es una propiedad debida principalmente a la fracción de amilopectina (Tester y Morison, 1990). Sasaki y Matsuki (1998) sugieren que los altos contenidos de cadenas largas de las moléculas que conforman la amilopectina (grado de polimerización ≥ 35), contribuye a elevar la CH.

De los resultados obtenidos relativos a la capacidad de hinchamiento se observan valores que oscilan entre 1-2,5 % en las muestras de leguminosas crudas (Figura 48, Tabla VII, Anexo). Los datos obtenidos son similares a los encontrados en la literatura (Jood y col., 1998). Una vez que las muestras son cocidas, los valores de CH experimentan notables aumentos (27-82%), excepto en la judía Pinta que no presenta ningún aumento respecto a la muestra cruda. El distinto comportamiento que muestran las legumbres durante la cocción podría ser debido a la distinta permeabilidad y el impedimento físico que presenta la cubierta de la semilla, a la composición química de la pared celular, a la composición de la cubierta de la

semilla y a la gelatinización del almidón (Waldia y col., 1996). Asimismo, Ahmed y Shehata (1982) y Williams y col. (1983) sugirieron que elevados niveles de la capacidad de hinchamiento, causaba menores tiempos de cocción en garbanzos (*Kabuli y Desi*). Los estudios desarrollados por Sasaki y Matsuki (1998) desvelan que la capacidad de hinchamiento aumenta linealmente con el calor de gelatinización y desciende linealmente con el contenido de amilosa.

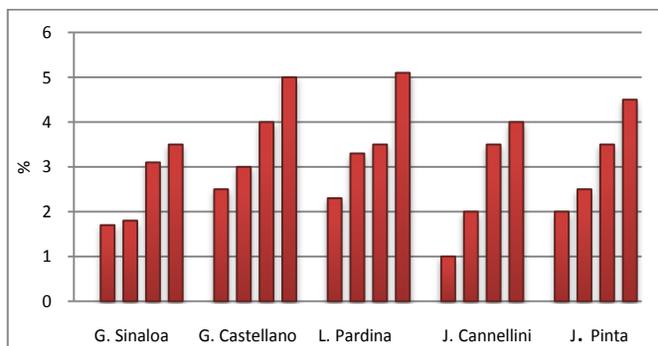


Figura 48. Variación de la capacidad de hinchamiento en las harinas de leguminosas durante el proceso de deshidratación (%).

(1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Cuando las muestras son sometidas a una última etapa de deshidratación, los valores de CH experimentan ligeros incrementos en todas las legumbres, destacando la lenteja Pardina que muestra aumentos de 46% respecto a la etapa de cocción. Aunque, en general, la deshidratación provoca un aumento de la capacidad de hinchamiento que presentan las harinas de todas las leguminosas estudiadas, la respuesta no es la misma en todas las especies, siendo la lenteja Pardina la legumbre que mostró mayores valores de CH (5,1%). La capacidad de hinchamiento se atribuye principalmente a la fracción de almidón presente en las legumbres. Asimismo, cabe destacar el paralelismo existente entre el aumento del contenido en almidón disponible a lo largo del proceso industrial de deshidratación, y el que se produce en la capacidad de hinchamiento a medida que se van sucediendo las etapas del proceso. Este comportamiento revela según el análisis de regresión lineal entre la CH y la fracción amilácea, notables correlaciones, siendo todas ellas significativas en las legumbres estudiadas, destacando el garbanzo Castellano ($r =$

0,96, $P < 0,01$), el garbanzo Sinaloa ($r = 0,94$, $P < 0,01$) y la judía Cannellini ($r = 0,88$, $P < 0,05$) y en menor medida la lenteja Pardina ($r = 0,77$, $P < 0,05$) y la judía Pinta ($r = 0,68$, $P < 0,1$), (Tabla VIII, Anexo).

Capacidad Emulsionante (CEm)

La Figura 49 (Tabla VII, Anexo) muestra los resultados obtenidos en la medida de la CEm de las harinas crudas, remojadas, cocidas y deshidratadas. Las muestras crudas presentan una mayor estabilidad, dando lugar a una suspensión viscosa en agua a temperatura ambiente más estable que las legumbres deshidratadas.

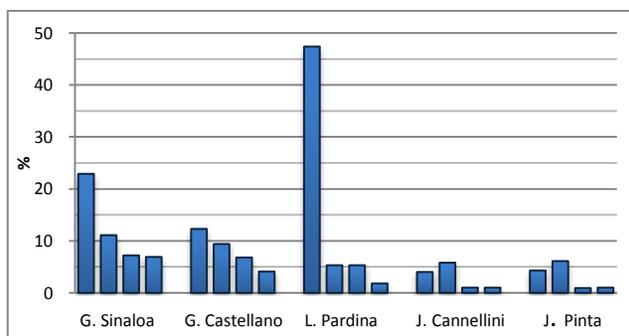


Figura 49. Variación de la capacidad emulsionante en las legumbres estudiadas durante el proceso de deshidratación (%).

(1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

La lenteja es la legumbre que presenta una mayor CEm (47%), seguida del garbanzo Sinaloa (23%) y del garbanzo Castellano (12%). Sin embargo, los valores de CEm encontrados en las judías Cannellini y Pinta (4,0 y 4,3 %, respectivamente) son inferiores si los comparamos con los obtenidos por diversos autores (Chau y Cheung y Chau, 1998; Granito y col., 2007). Estos resultados tan heterogéneos están directamente relacionados con el contenido de fibra alimentaria y la proporción en la que las fracciones de fibra se encuentran presentes en cada una de las legumbres objeto de estudio (Betancur-Ancona y col., 2004). El elevado contenido de fibra soluble de las judías ($\approx 56\%$) respecto al total de fibra alimentaria, si se compara con los valores de FS del resto de legumbres ($\approx 17,1$) puede ser uno de los factores que determine la baja capacidad de emulsión que presentan estas harinas (resultados reflejados en capítulos anteriores). Sin embargo, al establecer el análisis estadístico

en las legumbres objeto estudio entre la CEm y la fibra soluble no se observa ninguna correlación significativa (Tabla IX, Anexo). Asimismo, las diferencias de CEm en las leguminosas estudiadas también pueden ser debidas al diferente nivel de proteínas solubilizadas, lo que puede influir en la CEm modificando el balance de fuerzas atractivas de Van der Waals y electrostáticas repulsivas (Adebowale y Lawal, 2004). La alta correlación establecida entre la CEm y la solubilidad de las proteínas en las distintas leguminosas estudiadas (Tabla X, Anexo), destacando el garbanzo Sinaloa ($r = 0,93$, $P < 0,01$) y la judía Pinta ($r = 0,87$, $P < 0,05$), confirma la gran influencia que las proteínas ejercen sobre esta propiedad tecnofuncional. El procesado de las harinas de leguminosas provoca drásticas reducciones de la CEm, lo que nos indica que esta capacidad tecno-funcional es sensible al tratamiento térmico (Chau y Cheung, 1998; Granito y col., 2007). Las interacciones que se producen entre los diferentes componentes de las harinas influyen en sus propiedades y, por lo tanto, son las responsables de las variaciones que tienen lugar durante el procesado. Estas observaciones ratifican la relación, que otros autores defienden, entre la capacidad emulsionante y la solubilidad proteica (Mc Watters y Holmes, 1979).

Capacidad Espumante (CE)

La capacidad espumante (expansión de la espuma) de las harinas de leguminosas objeto de estudio pone de manifiesto que el garbanzo Sinaloa exhibe los niveles más bajos (24%) si lo comparamos con el resto de leguminosas, que presentan capacidades en torno al 40%, en el caso de la lenteja Pardina, la judía Cannellini y el garbanzo Castellano, o del 48% en la judía Pinta (Figura 50, Tabla VII, Anexo). Las CE elevadas pueden ser atribuidas al aumento de flexibilidad de la proteína, la cual se difunde más rápidamente en la interfase aire-agua encapsulando partículas de aire, favoreciendo así la formación de espuma (Aluko y Yada, 1995). Por otro lado, algunos autores sugieren que CE elevadas pueden estar directamente relacionadas con la solubilidad del nitrógeno de las harinas de leguminosas (Singh, 2001).

Respecto a los valores de CE durante el proceso de cocción, se observan reducciones acusadas si se refiere al valor en harinas crudas (25-79%) que se han puesto de manifiesto en investigaciones previas (Granito y col., 2007). Las judías son las

legumbres que presentan menores reducciones (25% en ambos casos), aunque son las únicas que se ven afectadas por la etapa posterior de deshidratación, mostrando reducciones de 6% y 10% (respecto a la cocción) en la judía Cannellini y judía Pinta, respectivamente. Granito y col. (2007) apuntan ligeras reducciones en la judía de Lima en la etapa de deshidratación respecto a la cocción (4%).

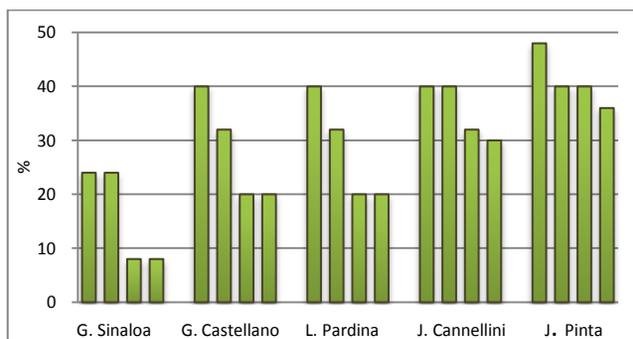


Figura 50. Variación de la capacidad espumante en las legumbres estudiadas durante el proceso de deshidratación (%).

(1ª columna Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Los bajos valores de CE que presentan las muestras procesadas se deben principalmente a los cambios en la configuración que sufren las proteínas al ser expuestas a altas temperaturas en las etapas de cocción y deshidratación. Las moléculas de proteínas flexibles presentan una excelente capacidad de formar espumas, sin embargo las moléculas ordenadas globulares presentan una menor CE porque éstas son incapaces de reducir la tensión superficial de la interfase aire-agua. Como resultado de someter las muestras a un tratamiento de cocción y deshidratación, se consigue una menor solubilización de las proteínas (reflejado en el capítulo 5) debido a la desnaturalización de las mismas, lo que provocará una reducción de la capacidad espumante, tal y como lo pone de manifiesto Yasumatsu y col. (1972) en sus estudios. Las correlaciones establecidas entre la CE y la solubilidad proteica en las harinas de leguminosas estudiadas corroboran lo establecido por Yasumatsu y col. (1972), revelando correlaciones significativas en todas las legumbres (Tabla X, Anexo). La lenteja Pardina destaca por la gran influencia que las proteínas solubles ejercen sobre la capacidad de espumante ($r = 0,96$, $P < 0,01$), al igual que la judía Cannellini ($r = 0,91$, $P < 0,01$), el garbanzo

Castellano ($r = 0,88$, $P < 0,01$), y la judía Pinta ($r = 0,87$, $P < 0,01$), siendo el garbanzo Sinaloa la legumbre que presenta una menor correlación ($r = 0,81$, $P < 0,05$).

Capacidad gelificación

La capacidad de gelificación, es decir, la mínima concentración de harina a la cual tiene lugar la gelificación (MCG), es una propiedad físico-química que está asociada a la proporción de los diferentes constituyentes tales como proteínas, carbohidratos y lípidos de las harinas. Un bajo valor de MCG indica una mejor capacidad de gelificación. A diferencia de la gelatina que puede formar geles a una concentración del 1 a 2% (p/v) de proteína, las leguminosas requieren una concentración del 10 - 20% p/v y temperatura mayor de 70 °C (comparado con la gelatina, 4 °C). Los resultados obtenidos (Figura 51, Tabla VII, Anexo) muestran cómo las judías, con valores de MCG del 12% son las legumbres que necesitan una mayor concentración para poder formar un gel estable, mientras que el resto de legumbres presenta valores del 8%.

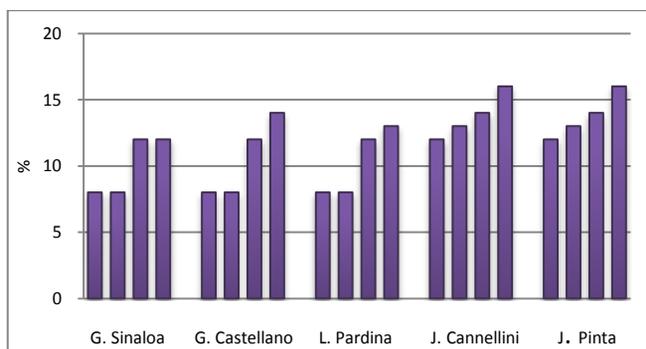


Figura 51. Variación de la capacidad de gelificación en las legumbres estudiadas durante el proceso de deshidratación (MCG, %).

(1ª columna, Cr; 2ª columna R; 3ª columna R+C; 4ª columna R+C+D).

Estas variaciones entre leguminosas parecen estar relacionadas con el nivel de globulinas que tenga la semilla de leguminosa. Chau y Cheung (1998) obtuvieron valores similares de MCG en distintas variedades de judías, mientras que Granito y col. (2007) encontraron valores muy inferiores en judías (6%) y Adebowale y Lawal

(2004) observaron resultados de MCG ligeramente superiores en judías (14-16%), al igual que Onweluzo y col., (1994) con valores de 24% en el caso de la soja. Después de experimentar un tratamiento térmico, como es la cocción, los valores de MCG se incrementan del orden del 50% en los garbanzos y en la lenteja Pardina, aunque sólo experimentan aumentos del 17% en el caso de las judías. Sin embargo, Granito y col. (2007) indican incrementos del 100% durante el proceso de cocción, al duplicar el valor de MCG hasta un 12%. La deshidratación de las leguminosas muestra una tendencia a disminuir la capacidad de gelificación. Esta disminución producida respecto a la muestra cruda, es igual o superior al 50% en el caso de los garbanzos y la lenteja Pardina, o son del orden de 33% como sucede en las judías. Las acusadas disminuciones de la capacidad de gelificación que experimentan las harinas de leguminosas durante el proceso de deshidratación, están relacionadas con el comportamiento que ciertos componentes ejercen en dicha propiedad, tales como proteínas, lípidos y carbohidratos (Adebowale y Lawal, 2004). Así lo indican los resultados del análisis de regresión lineal establecido entre la CG y la fracción proteica, amilácea y lipídica, revelando una mayor correlación significativa en todas las legumbres estudiadas entre la MCG y la fracción lipídica (Tabla XI., Anexo). Cabe destacar la notable correlación establecida de la capacidad de gelificación en el garbanzo Sinaloa con cada uno de los componentes alimentarios analizados, almidón disponible ($r = 0,95$, $P < 0,01$), proteínas ($r = 0,83$, $P < 0,05$) y lípidos presentes ($r = 0,83$, $P < 0,05$); al igual que la lenteja Pardina donde se muestran correlaciones significativas entre la MCG y lípidos ($r = 0,92$, $P < 0,01$), proteínas ($r = 0,90$, $P < 0,01$), y menos acentuadas con el almidón disponible ($r = 0,77$, $P < 0,05$).

La gelificación de las harinas de leguminosas es esencial en la preparación y aceptación de muchos alimentos. Los mecanismos que tienen lugar durante la gelificación son fundamentalmente controlados por el equilibrio entre interacciones hidrofóbicas atractivas e interacciones electrostáticas repulsivas. Del mismo modo, la capacidad de gelificación se ve influenciada por la competición física por el agua en la proteína que gelifica y el almidón que se gelatiniza. Los altos valores de MCG en las legumbres procesadas se deben al aumento en la afinidad termodinámica que se produce entre las proteínas y la solución acuosa, disminuyendo así, las interacciones entre proteínas. Durante la cocción, tiene lugar desnaturalización y

agregación de proteínas, por tanto, aparecen fuerzas repulsivas y atractivas debido a las cargas superficiales de los diferentes grupos funcionales que se exponen como consecuencia del desplegamiento de la proteína durante el tratamiento térmico (Singh, 2001).

Por otro lado, el pH de las dispersiones proteicas tiene un efecto importante sobre las reacciones de gelificación ya que influye en el balance de residuos polares y no polares. A pHs cercanos al punto isoeléctrico las interacciones proteína-proteína se ven favorecidas ya que la carga neta de superficie proteica es cercana a cero, lo cual reduce significativamente las interacciones repulsivas entre moléculas de proteína. Sin embargo, a pHs alejados del punto isoeléctrico, la carga neta de la superficie de la proteína es alta y existen fuerzas repulsivas entre proteínas.

En general, la presencia de carbohidratos es controvertida, así hay estudios en los que la adición de carbohidratos mejora la capacidad de gelificación de las harinas de leguminosas (Adebowale y Lawal, 2004), mientras otras investigaciones muestran reducciones cuando se añaden carbohidratos (Adebowale y Lawal, 2003a, 2003b, 2003c) en concentrados de proteína de *Mucuna*.

Conclusiones

La evaluación de la repercusión del proceso de deshidratación sobre las propiedades tecno-funcionales de las harinas de leguminosas indica que:

- La densidad aparente, la capacidad de absorción y retención de agua y de hinchamiento de las harinas se ven afectadas en gran medida por el contenido de almidón disponible, estableciéndose relaciones significativas en la mayoría de las legumbres. Por lo tanto, el procesado promueve aumentos destacados en dichas propiedades como consecuencia del incremento de digestibilidad de la fracción amilácea;
- Las capacidades emulsionante, espumante y de gelificación se ven reducidas por efecto de la cocción y deshidratación. Se han establecido excelentes correlaciones entre la proteína y las capacidades emulsionante, espumante y gelificante, mostrándose la proteína como principal responsable de los cambios exhibidos en todas las legumbres que han sido sometidas a un proceso de deshidratación;

- La fibra alimentaria, principalmente la FI, también ejerce cierta influencia en las capacidades de retención y absorción de agua, mostrando incrementos en dichas propiedades como consecuencia del tratamiento;
- La propiedad tecno-funcional de capacidad de retención de aceite es baja, lo que convierte a estas harinas en un ingrediente potencial para productos fritos debido a que proporcionaría una sensación no grasa. Esta propiedad apenas se ve afectada por el contenido proteico o amiláceo, mostrando únicamente el garbanzo Sinaloa una correlación significativa con la proteína y la judía Cannellini con el almidón.

Se puede concluir que las harinas de las leguminosas estudiadas pueden ser utilizadas como ingredientes funcionales en sistemas alimentarios tales como productos de panadería, aderezo y salchichas.

Conclusiones

VI. CONCLUSIONES GENERALES

El análisis global de los resultados reflejados en la presente memoria ha permitido llegar a las siguientes conclusiones:

- El proceso de deshidratación tiene un impacto muy relevante sobre la reducción de la presencia de factores antinutricionales en leguminosas, en paralelismo con un considerable aumento en la digestibilidad de las proteínas, lo que permite la utilización segura y eficaz de las harinas deshidratadas;
- La composición fenólica y la actividad antioxidante es especialmente notable en harinas de lentejas y judías pintas, destacando además la presencia de isoflavonas en garbanzos. Aunque la deshidratación produce cambios en la fracción fenólica y una cierta disminución de la capacidad antioxidante, las harinas deshidratadas, y muy en especial las de judías, muestran una destacada capacidad antioxidante;
- La fracción amilácea en las leguminosas se caracteriza por la presencia de una elevada proporción de almidón resistente a la digestión. La deshidratación da lugar a un considerable incremento de su biodisponibilidad, provocando una notable mejora en las características de digestibilidad de las harinas deshidratadas;
- La evaluación de la influencia de la deshidratación sobre el contenido y composición de la fibra alimentaria pone de manifiesto un incremento de la misma, acompañado por lo general de una mejora en la relación fibra insoluble-fibra soluble, lo que repercute en las propiedades físico-químicas y funcionales de las harinas;
- Finalmente, las harinas deshidratadas de garbanzos, lentejas y judías evaluadas en el presente estudio, muestran unas propiedades tecno-

funcionales óptimas, como la baja capacidad de retención de aceite o la elevada capacidad de retención de agua, razón por la que pueden ser consideradas como ingredientes funcionales idóneos para la formulación de diversos tipos de alimentos.

Bibliografía

- Adebowale, K. O.; Lawal, O. S. Microstructure, physicochemical properties and retrogradation behaviour of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) starch on heat moisture treatment, *Food Hydrocol.* **2003a**, *17*, 265-272.
- Adebowale, K. O.; Lawal, O. S. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. *Food Chem.* **2003b**, *83*, 237-246.
- Adebowale, K. O.; Lawal, O. S. Functional properties and retrogradation behaviour of native and chemically modified starch of mucuna bean (*Mucuna pruriens*). *J. Sci. Food Agric.* **2003c**, *83*, 1541-1546.
- Adebowale, K. O.; Lawal, O. S. Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flours. *Food Res. Int.* **2004**, *37*, 355-365.
- Agrawal, K.; Singh, G. Physico-chemical and milling quality of some improved varieties of chickpea (*Cicer arietinum*). *J. Food Sci. Technol.* **2003**, *40*, 439-442.
- Aguilera, J. M.; Stanley, D. W. Microstructural principles of food processing and engineering. Gaithersburg, Aspen. 1999.
- Aguilera, J. M.; Chiralt, A.; Fito, P. Food dehydration and product structure. *Trends Food Sci. Tech.* **2003**, *14*, 432-437.
- Ahmed, M.; Shehata, E. L. T. Cooking quality of faba beans. In *Faba beans improvement*; Hawtin, G., Webb, C., Eds.; International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA): Aleppo, Syria. 1982; pp 355-362.
- Almeida-Costa, G. E.; Silva, K.; Pissini, S. M.; Costa, A. Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chem.* **2006**, *94*, 327-330.
- Alonso, R.; Aguirre, A.; Marzo, F. Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and *in vitro* digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem.* **2000**, *68*, 159-165.
- Aluko, R. E.; Yada, R. Y. Structure-function relationships of cowpea (*Vigna unguiculata*) globulin isolate: influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. *Food Chem.* **1995**, *53*, 259-265.
- Amarowicz, R.; Pegg, R. B. Legumes as a source of natural antioxidants. *Eur. J. Lipid Sc. Technol.* **2008**, *110*, 856-878.
- Ambekar, S. S.; Patil, S. C.; Giri, A. P.; Kachole, M. S. Proteinaceous inhibitors of trypsin and of amylases in developing and germinating seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan*(L) Millsp.). *J. Sci. Food Agri.* **1996**, *72*, 57-62.
- Anderson, J. W.; Hanna, T. J. Impact of nondigestible carbohydrates on serum lipoproteins and risk for cardiovascular disease. *J Nutr.* **1999**, *129*, 1457- 1466.

- Anderson, J. W.; Major, A. W. Pulses and lipaemia, short- and longterm effect: potential in the prevention of cardiovascular disease. *Br J Nutr.* **2002**, *88*, 263-271.
- Anton, A. A.; Ross, K. A.; Lukow, O. M.; Fulcher, R. G.; Arntfield, S. D. Influence of added bean flour (*Phaseolus vulgaris* L.) on some physical and nutritional properties of wheat flour tortillas. *Food. Chem.* **2008**, *109*, 33-41.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*, 15th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 1990.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Washington, DC, 1995.
- Ariza, N. Estudio de componentes nutricionales y antinutricionales en guisante (*Pisum sativum* L.). Influencia de la variedad y del proceso de germinación. *Tesis Doctoral*. Universidad Autónoma de Madrid, 1999.
- Asami, D. K. ; Hong, Y. J.; Barret, D. M.; Mitchell, A. E. Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry and corn grown using conventional, organic and sustainable agricultural practices. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1237-1241.
- Ashwell, M. Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. *Public Health Nutr.* CABI Publishing: Oxford, UK, 2001; Vol. 4, pp 859-862.
- Asp, N. G. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. *Food Chem.* **1996**, *57*, 9-14.
- Atienza, J.; Sanz, M.; Herguedas, A.; Alejos, J. A.; Jimenez, J. J. Beta-carotene alpha-tocopherol and gamma-tocopherol contents in dry legumes. Influence of cooking. *Food Sci. Technol. Int.* **1999**, *4*, 437-441.
- Baderschneider, B.; Winterhalter, P. Isolation and characterization of novel benzoates, cinnamates, flavonoids, and lignans from Riesling wine and screening for antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2788-2798.
- Barampama, Z.; Simard, R. E. Effects of soaking, cooking and fermentation on composition, *in-vitro* starch digestibility and nutritive value of common beans. *Plant Foods Hum. Nutr.* **1995**, *48*, 349-365.
- Barceló, J.; Nicolás, G.; Sabater, B.; Sánchez, R. Maduración y germinación de las semillas. En *Fisiología vegetal*. Barceló, J., Nicolás, G., Sabater, B., Sánchez, R., Pirámide, S. A., Eds.; Madrid, 1992; pp 543-580.
- Bartolomé, B.; Fernández de Simón, B.; Estrella, I.; Hernández T. Phenolic compounds in dietary fibre fractions from lentils. *Bull. Liaison Groupe Polyphénols.* **1992**, *16*, 74-77.
- Bartolomé, B.; Estrella, I.; Hernández T. Changes in phenolic compounds in lentils (*Lens culinaris*) during germination and fermentation. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A.* **1997**, *205*, 290-294.

- Bartolomé, B.; Estrella, I.; Hernández, M. T. Interaction of low molecular weight phenolics with proteins (BSA). *J. Food Sci.* **2000**, *65*, 617-621.
- Barz, W.; Hoesel, J. Secondary plant product. In *The biochemistry of plants*; Conn, E. E., Eds.; Academic press, Londres, 1981; Vol. 7, pp 725-753.
- Bate-Smith, E. C.; Swain, T. In *Comparative biochemistry*; Mason, H. S., Florin, A. M., Eds.; Academic Press, Nueva York, 1962. Vol. 3.
- Bednar, G. E.; Patil, A. R.; Murray, S. M.; Grieshop, C. M.; Merchen, N. R.; Fahey, G. C. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability *in vitro* in a canine model. *J. Nutr.* **2001**, *131*, 276-286.
- Belitz, H. D., Grosh, W. *Química de los alimentos*. 2ª Ed. Editorial Acribia. 1997.
- Bell, E. A. Secondary plant products. In *The biochemistry of plants*; Conn, E. E., Eds.; Academic Press, Londres, 1981; Vol 7.
- Bellisle, F.; Diplock, A. T.; Hornstra, G.; Koletzko, B.; Roberfroid, M. B. Functional food science in Europe. *Br. J. Nutr.* **1998**, *1*, 1-193.
- Bemiller, J. N. Starch modification: challenges and prospects. *Starch.* **1977**, *49*, 127-131.
- Bencini, M. C. Functional properties of drum dried chickpea flour. *J. Food Sci.* **1986**, *51*, 1524-1526.
- Bender, F. E.; Douglass, L. W.; Kramer, A. *Statistical Methods for Food and Agriculture*, Food Products Press, New York, 1989.
- Beninger, C. W.; Hosfield, G. L. Flavonoids composition of three genotypes of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) differing in seed coat color. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **1999a**, *124*, 514-518.
- Beninger, C. W.; Hosfield, G. L. Flavonol glycosides from Montclam dark red kidney bean: Implications for the genetics of seed coat color in *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Food Chem.* **1999b**, *47*, 4079-4082.
- Betancur-Ancona, D.; Gallegos-Tintoré, S.; Chel-Guerrero, L. Wet-fractionation of *Phaseolus lunatus* seeds: partial characterization of starch and protein. *J. Sci. Food Agri.* **2004**, *84*, 1193-1201.
- Beuchat, L. R. Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *J. Agric. Food Chem.* **1977**, *25*, 258-261.
- Bijnen, F. G. C.; van Alst, H.; Baillif, P. Y.; Blonk, J. C. G.; Kersten, D.; Kleinherenbrink, F.; Lenke, R.; vander Stappen, M. L. M. In-line measurement of food products. *Powder Technol.* **2002**, *124*, 188-194.
- Bingham, S. A.; Day, N. E.; Luben, R.; Ferrari, P.; Slimani, N.; Norat, T.; Clavel- Chapelon, F.; Kesse, E.; Nieters, A.; Boeing, H.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Martinez, C.; Dorronsoro, M.; González, C. A.; Key, T. J.; Trichopoulou, A.; Naska, A.; Vineis, P.; Tumino, R.; Krogh, V.; Bueno-de-Mesquita, H. B.; Peeters, P. H. M.; Berglund, G.; Hallmans, G.; Lund, E.; Skeie,

- G.; Kaaks, R.; Riboli, E. Dietary fibre in food and protection colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. *Lancet*. **2003**, *361*, 1496-1501.
- Blaszcak, W.; Doblado, R.; Frías, J.; Vidal-Valverde, C.; Sadowska, J.; Fornal, J. Microstructural and biochemical changes in raw and germinated cowpea seeds upon high-pressure treatment. *Food Res. Inter*. **2007**, *40*, 415-423.
 - Blumenkrantz, N.; Asboe-Hansen, G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem*. **1973**, *54*, 484-489.
 - Boulter, D. Quality problems in protein plants with special attention paid to the proteins of legumes. In *Plant protein*; Norton, G., Eds.; London. 1977.
 - Brett, C. T.; Waldron, K. W. *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls*, edition nº 2; Chapman and Hall, London, 1996.
 - Buchner, N.; Krumbein, A.; Rohn, S.; Kroh, L. W. Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. *Rapid Commun. Mass Sp*. **2006**, *20*, 3229-35.
 - Burbano, C.; Muzquiz, M.; Osagie, A.; Ayet, G.; Cuadrado, C. Determination of phytate and lower inositol phosphates in Spanish legumes by HPLC methodology. *Food Chem*. **1995**, *52*, 321-325.
 - Burbano, C.; Muzquiz, M.; Ayet, G.; Cuadrado, C.; Pedrosa, M. Evaluation of antinutritional factors of selected varieties of *Phaseolus vulgaris*. *J. Sci. Food Agric*. **1999**, *79*, 1468-1472.
 - Butz, P.; Fister, H.; Tauscher, B. Inactivation of lectins by ultrahigh pressure. In *Effects of antinutrients on the nutritional value of legume diets*; Bardocz, S.; Pusztai, A., Eds, 1996; Vol. 2.
 - Calderón de la Barca, A. M.; Jara-Marini, M. E.; Vázquez-Moreno, L. Haptenic carbohydrates effect the thermal denaturation of soybean lectin. *J. Food Biochem*. **1994**, *17*, 295-302.
 - Carbonaro, M.; Vecchini, P.; Carnovale, E. Protein solubility of raw and cooked beans (*Phaseolus vulgaris*): role of the basic residues. *J. Agric. Food Chem*. **1993**, *41*, 1169-1175.
 - Carbonaro, M.; Cappelloni, M.; Nicoli, S.; Lucarini, M.; Carnovale, E. Solubility-Digestibility relationship of legume proteins. *J. Agric. Food Chem*. **1997**, *45*, 3387-3394.
 - Carnovale, E.; Lugaro, E.; Lombardi-Boccia, G. Phytic acid in faba bean and pea: effect on protein availability. *Cereal Chem*. **1988**, *65*, 114-117.
 - Castillo, J.; Benavente-García, O.; Lorente, J.; Alcraz, M.; Redondo, A.; Ortuño, A.; Del Rio, J. A. Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of flavan-3-ols (procyanidins) from a grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *J. Agric. Food Chem*. **2000**, *48*, 1738-1745.
 - Champ, M.; Martin, L.; Noah, L.; Gratas, M. In *Complex carbohydrates in foods*; Cho, S. S., Prosky, L., Drcher, M., Eds.; New York: Marcel Dekker, 1999; pp 169- 187

- Chandalia, M.; Garg, A.; Lutjohann, D.; Von Bergmann, K.; Grundy, S. M.; Brinkley, L. J. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 Diabetes Mellitus. *New Engl. J. Med.* **2000**, *342*, 1392-1398.
- Chang, M. C.; Morris, W. C. Effect of heat treatments on chemical analysis of dietary fiber. *J. Food Sci.* **1990**, *55*, 1647-1650.
- Chau, C. F.; Cheung, P. C. K., Wong, Y. S. Functional properties of protein concentrates from three Chinese indigenous legume seeds. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 2500-2503.
- Chau, C. F.; Cheung, P. C. K. Functional properties of flour prepared from three Chinese indigenous legume seeds. *Food Chem.* **1998**, *61*, 429-433.
- Chau, C. F.; Huang, Y. L. Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2615-2618.
- Chel-Guerrero, L.; Red-Flores, V. P.; Betancun-Ancona, D.; Vila-Ortiz, G. D. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Cannaavalia ensiformis* seeds. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 584-591.
- Cheung, P. C. K.; Chau, C. F. Changes in the dietary fiber (resistant starch and nonstarch polysaccharides) content of cooked flours prepared from three Chinese indigenous legumes seeds. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 262-265.
- Chillo, S.; Laverse, J.; Falcone, P. M.; Del Nobile, M. A. Quality of spaghetti in base amaranthus wholemeal four added with quinoa, broad bean and chickpea. *J. Food Eng.* **2008**, *84*, 101-107.
- Chung, H. J.; Q. Liu, Hoover, R.; Warkentin, T. D.; Vandenberg, B. *In vitro* starch digestibility, expected glycemic index, and thermal and pasting properties of flours from pea, lentil and chickpea cultivars. *Food Chem.* **2008**, *111*, 316-321.
- Clemente, A.; Sánchez-Vioque, R.; Bautista, J.; Millán, F. Effect of cooking on protein quality of chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. *Food Chem.* **1998**, *62*, 1-6.
- Clemente, A.; MacKenzie, D. A.; Jonson, I. T.; Domoney, C. Investigation of legume seed protease inhibitors as potential anticarcinogenic proteins. In *Proceedings of the fourth international workshop on antinutritional factors in legume seeds and oilseeds*; Muzquiz, M., Hill, G. D., Cuadrado, C., Pedrosa, M. M., Burbano, C., Eds.; EAA Publications, Wageningen, 2004; pp 137-141.
- Codex Alimentarius Commission (CAC). Report of the 27th Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. Bonn, Germany 21-25. November, 2005. ALINORM 06/29/26. 2006.
- Coffey, D. G.; Verbersax, M. A.; Hosfield, G. L.; Bennink, M. R. Stability of red kidney bean lectin. *J. Food. Biochem.* **1992**, *16*, 43-57.
- Cubero, J. I.; Moreno, M. T. Leguminosas de grano. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España, 1983; pp 31-47.

- Cummings, J. H.; Macfarlane, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* **1991**, *70*, 443-459.
- Dagley, S.; Catabolism of aromatic compounds by microorganisms. *Adv. Microb. Physiol.* **1971**, *6*, 1-5.
- Dagorn-Scaviner, C.; Gueguen, J.; Lefebvre, J. Emulsifying properties of pea globulins as related to their adsorption behaviors. *J. Food Sci.* **1987**, *52*, 335-341.
- Dahlgvist, A. Method for assay of intestinal disaccharides. *Anal. Biochem.* **1964**, *7*, 18-25.
- Dávalos, A.; Gómez-Cordovés, C.; Bartolomé, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 48-54.
- Davis, K. R. Effect of processing on composition and tetrahymena relative nutritive-value of green and yellow peas, lentils and white pea beans. *Cereal Chem.* **1981**, *58*, 454-460.
- Davis, R. H. Cyanogens. In *Toxic substances in crop plants*. D'Mello, J. P., Duffus, C. M., Duffus, J. H, Eds. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 1991; pp 202-225.
- De Lumen, B. O. Molecular strategies to improve protein quality and reduce flatulence in legumes: a review. *Food Structure.* **1992**, *11*, 33-46.
- De Pascual Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Rivas-Gonzalo, J. C. Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foods and beverages. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5331-5337.
- Delaveau, F.; Vidal-Tessier, A. M. Proïètes biologiques et pharmacologiques des Quinônes. *Bull. Liaison Groupe Polyphênols.* **1986**, *13*, 299-303.
- Dewanto, V.; Wu, X.; Liu, R. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4959-64.
- Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A. A.; Capasso, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.* **1999**, *65*, 337-353.
- Díaz-Batalla, L.; Widholm, J. M.; Fahey, G. C.; Castaño-Tostado, E.; Paredes-López, O. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 2045-2052.
- Dinelli, G.; Bonetti, A.; Minelli, M.; Marotti, I.; Catizone, P.; Mazzanti, A. Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chem.* **2006**, *99*, 105-114.
- Diwakar, P.; Kushwah, A.; Kushwah, H. S. Effect of processing on the functional properties of some local varieties of horsegram (*Delichos biflorus*, L.) in Madhya Pradesh. *J. Food Sci. Technol.* **1996**, *33*, 150-152.
- Dixon, R. A.; Paiva, N. L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell.* **1995**, *7*, 1085-1097.
- D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M.; Duffus, J. H. En *Toxic Substances in Crop Plants*. D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M.; Duffus, J. H., Eds. ; Cambridge : The Royal Society of Chemistry, 1991.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I. Phenolic composition of the cotyledon and the seed coat of two varieties of lentils (*Lens culinaris*). *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *215*, 478-483.

- Dueñas, M.; Sun, B. S.; Hernández, T.; Estrella, I.; Spranger, I. Proanthocyanidins composition in the seed coat of lentils (*Lens culinaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7999-8004.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I. Occurrence of phenolic compounds in the seed coat and the cotyledon of peas (*Pisum sativum* L.). *Eur. Food Res. Technol.* **2004**, *219*, 116-123.
- Dueñas M., Fernández M. L., Hernández T., Estrella I., Muñoz R. Bioactive phenolic compounds of cowpea (*Vigna sinensis* L.) Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum*. *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 297-304.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I. Assessment in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic content. *Food Chem.* **2006**, *98*, 95-103.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I. Changes in the content of bioactive polyphenolic compounds of lentils by the action of exogenous enzymes. Effect on their antioxidant activity. *Food Chem.* **2007a**, *101*, 90-97.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I. Influence of the action of exogenous enzymes on the polyphenolic composition of pea (*Pisum sativum*, variety Esla). Effect on the antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* **2007b**, *225*, 493-500.
- Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I.; Fernández, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chem.* **2009**, *117*, 599-607.
- Duranti, M.; Gius, C. Legume seeds: Protein content and nutritional value. *Field Crops Res.* **1997**, *53*, 31-45.
- Duranti, M.; Scarafoni, A.; Di Cataldo, A.; Sessa, F. Interaction of metal ions with lupin seed conglutin γ . *Phytochemistry.* **2001**, *56*, 529-533.
- Duranti, M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia.* **2006**, *77*, 67-82.
- Dzudie, T.; Hardy, J. Physicochemical and functional properties of flours prepared from common beans and green mung beans. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 3029-3032.
- Edwards, C.A. In *The physiological effects of dietary fibre: dietary fibre in health and disease*; Kristchevsky, D., Bonfield, C., Eds.; St. Paul, MN: Eagan Press, 1995; pp 58-71.
- Egounlety, M.; Aworh, O. C. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soyabean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *J. Food Eng.* **2003**, *56*, 249-254.
- El-Hady, E. A. A.; Habiba, R. A. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legumes seeds. *Lebensm.-Wiss. U.- Technol.* **2003**, *13*, 155-175.
- El Siddig, O. O. A.; El Tinay, A. H.; Abd Alia, A. W. H.; Elkhailifa, A. E. O. Proximate composition, minerals, tannins, *in vitro* protein digestibility and effect of cooking on protein fractions of hyacinth bean (*Dolichos lablab*). *J. Food Sci. Technol.* **2002**, *39*, 111-115.

- El Tinay, A. H.; Mahgoub, S. O.; Mohamed, B. E.; Hamad, M. A. Proximate composition, mineral and phytate content of legumes grown in Sudan. *Food Comp. Anal.* **1989**, *2*, 69-78.
- Elongavan, V.; Sekar, N.; Govindasamy, S. Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis. *Cancer Lett.* **1994**, *87*, 107-113.
- El-Sayed, M. M. Use of plant protein isolates in processed cheese. *Nahrung.* **1997**, *41*, 91-95.
- Escarpa, A.; González, M. C. Total extractable phenolic chromatographic index: an overview of the phenolic class contents from different sources of foods. *Eur. Food Res. Technol.* **2001**, *212*, 439-444.
- Esteban, R. M.; Mollá, E.; Valiente, C.; Jaime, L.; López-Andréu, F.-J.; Martín-Cabrejas, M. A. Dietary fiber: chemical and physiological aspects. *Rec. Res. Devel. Agric. Food Chem.* **1998**, *2*, 293-308.
- FAO, FAO Yearbook Production 2002. FAO Statistics Series. Food and Agriculture Organization of the United States. Roma. 2003; vol. 55, No. 176.
- Fennema, O. *Química de los Alimentos*. 2º edición. Zaragoza, Acribia, 1993.
- Fenwick, G. R.; Price, K. R.; Tsukamoto, C.; Okubo, K. Saponines. In *Toxic substances in crop plants*. D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M., Duffus, J. H., Eds.; The Royal Society of Chemistry Cambridge, 1991; pp 15-25.
- Fernández, M.; Aranda, P.; López-Jurado, M.; García-Fuentes, M. A.; Urbano, G. Bioavailability of phytic acid phosphorus in processed *Vicia faba L.* var. *Major*. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 4367-4371.
- Fernández-Quintela, A.; Larralde, J.; Macarulla, M. T.; Marcos, R.; Martínez, J. A. Leguminosas y concentrados de proteína: nuevas perspectivas y aplicaciones. *Alimentaria.* **1993**, *1*, 59-63.
- Ferrason, E.; Quillien, L.; Guguen, J. Amino acid sequence of a Bowman Birk proteinase inhibitor from pea seeds. *J. Prot. Chem.* **1995**, *14*, 467-475.
- Ferreres, F.; Esteban, E.; Caréma-Ruiz, R.; Jiménez, M. A.; Tomás-Barberán, F. A. Acylated flavonol sopherotriosides from pea shorts. *Phytochem.* **1995**, *39*, 1443-1446.
- Franco, C. L. M.; Ciacco, D. F. Factors that affect the enzymatic degradation of natural starch granules – effect of the size of the granules. *Starch.* **1992**, *44*, 422-426.
- Frankel, E. N.; Waterhouse, A. L.; Kinsella, J. E. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Delancet.* **1993**, *341*, 1103-1104.
- Frías, J.; Vidal-Valverde, C.; Kozłowska, H.; Tabera, J.; Honke, J.; Hedley, C. L. Natural fermentation of lentils. Influence of time, flour concentration, and temperatura on the kinetics of monosaccharides, disaccharides and α -galactosides. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 579-584.

- Frías, J.; Vidal-Valverde, C.; Sotomayor, C.; Díaz-Pollán, C.; Urbano, G. Influence of processing on available carbohydrate content and antinutritional factors of chickpeas. *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, *210*, 340-345.
- Friedman, M. Food browning and its prevention. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 631-653.
- Friedman, M.; Brandon, D. L. Nutritional and health benefits of soy proteins. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 1069-1086.
- Fuhrman, B.; Aviram, M. Polyphenols and flavonoids protect LDL against atherogenic modifications. In: *Handbook of antioxidant*; Cadenas, E., Packer, L., Eds.; Marcel Dekker, New York, 2002; pp 303-336.
- Fukui, K.; Tachibana, N.; Wanezaki, S.; Tzuzaki, S.; Takamatsu, K.; Yamamoto, T.; Hashimoto, Y.; Shimoda, T. Isoflavone-Free Soy Protein Prepared by Column Chromatography Reduces Plasma Cholesterol in Rats. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5717-5721.
- Gao, M.; Zhang, W. C.; Liu, Q. S.; Hu, J. J.; Liu, G. T.; Du, G. H. Pinocembrin prevents glutamate-induced apoptosis in SH-SY5Y neuronal cells via decrease of bax/bcl-2 ratio. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *591*, 73-79.
- García, P.; Bretón Lesmes, I.; de la Cuerda Compes, C.; Álvarez, C. Metabolismo colónico de la fibra. *Nutr. Hosp.* **2002**, *17*, 11-16.
- Garleb, K. A.; Bourquin, L. D.; Fahey, G. C. Neutral monosaccharide composition of various fibrous substrates: a comparison of hydrolytic procedures and use of anion-exchange high performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection of monosaccharides. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, *37*, 1287-1293.
- Garrido, I.; Monagas, M.; Gomez-Cordoves, C.; Bartolome, B. Polyphenols and antioxidant properties of almond skins: Influence of industrial processing. *J. Food Sci.* **2007**, *78*, 106-115.
- Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. *In vitro* digestibility of albumin proteins from *Phaseolus vulgaris* L. Effect of chemical modification. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 3022-3028.
- Giami, S. Y.; Okwechime, U. I. Physicochemical properties and cooking quality of four new cultivars of Nigerian cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *J. Sci. Food Agr.* **1993**, *63*, 281-286.
- Giri, A. P.; Kachole, M. S. Amylase inhibitors of pigeonpea (*Cajanus cajan*) seeds. *Phytochem.* **1998**, *47*, 197-202.
- Gómez, M.; Oliete, B.; Rosel, C. M.; Pando, V.; Fernández, E. Studies on cake quality made of wheat, chickpea flours blends. *Food Sci. Tech.* **2008**, *41*, 1701-1709.
- Gooneratne, J.; Majsak-Newman, G.; Robertson, J. A.; Selvendran, R. R. Investigation of factors that affect the solubility of dietary fibre, as nonstarch polysaccharides, in seed tissues of mung bean (*Vigna radiata*) and black gram (*Vigna mungo*). *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 605-611.

- Gorospe, M. J.; Vidal-Valverde, C.; Frías, J. The effect of processing on phytic acid content of lentils. In: *Proceedings of the 1st European Conference on Grain Legume*; Angers, France, 1992; pp 425-426.
- Gowen, A.; Abu-Ghannam, N.; Frias, J.; Oliveira, J. Optimisation of dehydration and rehydration properties of cooked chickpeas (*Cicer arietinum* L.) undergoing microwave hot air combination drying. *Food Sci. Tech.* **2006**, *17*, 177-183.
- Granito, M.; Brito, Y.; Torres, A. Chemical composition, antioxidant capacity and functionality of raw and processed *Phaseolus lunatus*. *J. Sci. Food Agric.* **2007**, *87*, 2801-2809.
- Grant, G.; McKenzie, N. H.; Watt, W.; Stewart, J. C.; Dorward, P. M.; Pusztai, A. Nutritional evaluation of soybeans (*Glycine max*): Nitrogen balance and fractionation studies. *J. Sci. Food Agric.* **1986**, *37*, 1001-1010.
- Grant, G. Lectins. In *Toxic Substances in Crop Plants*. D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M.; Duffus, J. H., Eds. ; Cambridge : The Royal Society of Chemistry, 1991 ; pp. 49-67.
- Grant, G.; Edwards, J. E.; Pusztai, A. a-mylase inhibitor levels in seeds generally available in Europe. *J. Sci. Food Agric.* **1995**, *67*, 235-238.
- Gray, J. Hidratos de carbono: aspectos nutricionales y de salud. ILSI Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI. 2003.
- Gray, J. Dietary Fibre. Definition, Analysis, Physiology and Health. ILSI Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI. 2006.
- Griffiths, D. W. The inhibition of digestive enzymes by polyphenolic compounds. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1986**, *199*, 509-512.
- Gu, L.; Kelm, M.; Hammerstone, J. F.; Beecher, G.; Cunningham, D.; Vannozzi, S.; Prior, R. L. Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush blueberry and quantification of poycyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4852-4860.
- Guillon, F.; Champ, M. M.-J. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *Br. J. Nutr.* **2002**, *88*, 293-306.
- Guimarães, V. M.; de Rezende, S. T.; Moreira, M. A.; De Barros, E. G.; Felix, C. R. Characterization of α -galactosidases from germinating soybean seed and their use for hydrolyses of oligosaccharides. *Phytochem.* **2001**, *58*, 63-67.
- Gujska, E.; Khan, K. Effect of temperature on properties of extrudates from high starch fraction of navy pinto and garbanzo beans. *J. Food Sci.* **1990**, *55*, 466-469.
- Gupta, Y.P. Anti-nutritional and toxic factors in food legumes: a review. *Plant. Food. Hum. Nutr.* **1987**, 37201-37228.
- Hagerman, A. E.; Butler, L. G. The specificity of proanthocyanidin-protein interaction. *J. Biol. Chem.* **1981**, *256*, 4494-4501.

- Hajós, G.; Gelencsér, E.; Pusztai, A.; Grant, G.; Sakhri, M.; Bardocz, S. Biological effects and survival of trypsin inhibitors and the agglutinin from soybean in the small intestine of the rat. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 165-170.
- Hajós, G.; Gelencsér, E.; Grant, G.; Bardocz, S.; Sakhri, M.; Duguid, T. J.; Newman, A. M.; Pusztai, A. Effect of proteolytic modification and methionine enrichment on the nutritional value of soya albumins for rats. *J. Nutr. Biochem.* **1996**, *7*, 481-487.
- Hajós, G.; Osagie, A. U. Technical and biotechnological modifications of antinutritional factors in legumes and oilseeds. In: *Proceedings of the fourth international workshop on antinutritional factors in legume seeds and oilseeds*; Wageningen: EAAP, 2004; pp 293-305.
- Halvorsen, B. L.; Holte, K.; Myhrstad, M. C. W.; Barikmo, I.; Hvattum, E.; Remberg, S. F.; Wold, A. B.; Haffner, K.; Baugerød, H.; Andersen, L. F.; Moskaug, J. Ø.; Jacobs, D. R.; Blomhoff, R. A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J. Nutr.* **2002**, *132*, 461-471.
- Han, J.; Jann, J. A. M.; Gerlat, M. Development of gluten-free cracker snacks using pulse flours and fractions. *Food Reserch. Int.* **2009**. En prensa.
- Harborne, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In: *Methods in Plant Biochemistry*; Dey, P. M.; Harborne, J. B., Eds. Academic Press. Londres, 1989; vol. 1, pp 1-29.
- Hawkins, P. T.; Poyner, D. R.; Jackson, T. R.; Letcher, A. J.; Lander, D. A.; Irvine, R. F. Inhibition of iron-catalyzed hydroxyl radical formation by inositol polyphosphates: a possible physiological function for myo-inositol hexakisphosphate. *Biochem. J.* **1993**, *294*, 929-934.
- Hayasaka Y.; Waters E. J.; Cheynier V.; Herderich M. J.; Vidal S. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, *17*, 9-16.
- Henn, R. L.; Netto, F. M. Biochemical characterization and enzymatic hydrolysis of different commercial soybean protein isolates. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3009-3015.
- Heredia, A.; Barrera, C., Andrés, A. Drying of cherry tomato by a combination of different dehydration techniques. Comparison of kinetics and other related properties. *J. Food Eng.* **2007**, *1*, 111-118.
- Herman, K. Significance of hydroxycinnamic acid compounds in food. I. Antioxidant activity- Effects on the use, digestibility, and microbial spoilage of food. *Chem. Microbiol. Technol. Lebensm.* **1990**, *12*, 137-144.
- Holt, S.; Muntyan, I.; Likyer, L. Soya-based diets for diabetes mellitus. *Alternative & Complementary Therapies*, March/April, 1996.
- Hooda, S.; Jood, S. Organoleptic and nutritional evaluation of wheat biscuits supplemented with untreated and treated fenugreek flour. *Food Chem.* **2005**, *90*, 427-435.
- Hoover, R.; Zhou, Y. *In vitro* and *in vivo* hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes- a review. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *54*, 401-417.

- Hosel, L. W. Secondary plant product. In *The biochemistry of plants*; Conn, E. E., Eds.; Academic press, Londres, 1981; Vol 7.
- Howlet, J. Functional foods. From science to health and claims. ILSI Europe Concise Monograph Series. Brussels: ILSI. 2008.
- Hulton, C. W.; Campbell, A. M. Water and fat absorption. In *Protein functionality in foods*; Cherry, J. P., Eds. American Chemical Society, Washington, DC, 1981; pp 177-200.
- Iawabuchi, S.; Watanabe H.; Yamauchi, F. Observation on the dissociation of β -conglycinin into subunits by heat treatment. *J. Agric. Food Chem.* **1991**, *39*, 34–40.
- Ibrahim, S. S.; Habiba, R. A.; Shatta A. A.; Embaby, H. E. Effect of soaking, germination, cooking and fermentation on antinutritional factors in cowpeas. *Food Nahrung.* **2002**, *46*, 92-95.
- In-Hwa-Han, A.; Swanson, B. C.; Byung K. B. Protein digestibility of selected legumes treated with ultrasound and high hydrostatic pressure during soaking. *Cereal Chem.* **2007**, *84*, 518-521.
- Iqbal, A.; Khalil, I. A.; Ateeq, N.; Khan, M. S. Nutritional quality of important food legumes. *J. Food Chem.* **2006**, *97*, 331-335.
- Ishii, T. Feruloyl oligosaccharides from cell walls of suspension-cultured spinach cells and sugar beet pulp. *Plant Cell Phys.* **1994**, *35*, 701-704.
- Ismond, M. A. H.; Murray, E. D.; Arntfield, S. D. The role of non-covalent forces in micelle formation by vicilin from *Vicia faba*. II. The effect of stabilizing and destabilizing anions on protein interactions. *Food Chem.* **1986**, *21*, 27-46.
- Jaime, L. ; Mollá, E. ; Fernández, A. ; Martín-Cabrejas, M. A. ; López-Andréu, F. J. ; Esteban, R. M. Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 122-128.
- Jenkins, D. J. A.; Kendall, C. W. C.; Ransom, T. P. P. Dietary fiber, the evolution of the human diet and coronary heart disease. *Nutr. Res.* **1998**, *18*, 633-652.
- Johnson, I. T. Anti-tumour properties. In *Functional Food*; Gibson, G. R., Williams, C. M., Eds.; Woodhead Publishing: Cambridge, England, 2000; pp 141-162.
- Jood, S.; Bishnoi, S.; Sharma, A. Chemical analysis and physico-chemical properties of chickpea and lentil cultivars. *Food Nahrung.* **1998**, *42*, 71-74.
- Jovanovic, S. V.; Steenken, S.; Tosic, M.; Marjanovic, B.; Simic, M. G. Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soci.* **1994**, *116*, 4846-4851.
- Kaur, D.; Kapoor, A. C. Starch and protein digestibility of rice bean (*Vigna umbellata*): effects of domestic processing and cooking methods. *Food Chem.* **1990a**, *38*, 263-272.
- Kaur, D.; Kapoor, A. C. Some antinutritional factors in rice bean (*Vigna umbellata*): effects of domestic processing and cooking methods. *Food Chem.* **1990b**, *37*, 171-179.

- Kawale, S.; Kadam, S. S.; Chavan, U. D.; Chavan, J. K. Effect of processing on insoluble dietary fiber and resistant starch in kidney bean and horse gram. *J. Food Sci. Tech.* **2005**, *42*, 361-362.
- Khalil, A. H.; El-Adawy, T. A. Isolation, identification and toxicity of saponin from different legumes. *Food Chem.* **1994**, *50*, 197-201.
- Khatoon, N.; Prakash, J. Nutritional quality of microwave-cooked and pressure-cooked legumes. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2004**, *55*, 441-448.
- Kinsella, J. E. Functional properties of proteins in foods: a survey. *CRC Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **1976**, *7*, 219-280.
- Kochhar, N.; Walker, A. F.; Pike, D. J. Effect of variety on protein content, amino acid composition and trypsin inhibitor activity of cowpeas. *Food Chem.* **1988**, *29*, 65-78.
- Kutos, T.; Golob, T.; Kac, M.; Plestenjak, A. dietary fibre content of dry and processed beans. *Food Chem.* **2003**, *80*, 231-235.
- Lallés, J. P.; Peltre, E. Biochemical features of grain legume allergens in humans and animals. *Nutr. Rev.* **1996**, *54*, 101-107.
- Latha, S.; Daniel, M. Phenolic antioxidants of some common pulses. *J. Food Sci. Technol.* **2001**, *38*, 273-279.
- Leakey, C. Progress in breeding non-flatulent *Phaseolus* beans. *Grain Legumes.* **1994**, *5*, 18-19.
- Lee, S. C.; Prosky, L.; De Vries, J. W. Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods – Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J. AOAC.* **1992**, *75*, 395-416.
- Lee, Y. B.; Morr, C. V. Changes of headspace volatile compounds due to oxidation of milk fat during storage of dried dairy products. *Lipids in Food Flavors.* **1994**, *7*, 98-107.
- Lehrfeld, J. HPLC separation and quantification of phytic acid and some inositol phosphates in foods: problems and solutions. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2726-2730.
- Li, B. W.; Schuhmann, P. J.; Wolf, W. R. Chromatographic determinations of sugars and starch in a diet composite reference material. *J. Agric. Food Chem.* **1985**, *33*, 531-536.
- Li, B. W.; Andrews, K. W.; Pehrsson, P. R. Individual sugars, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 70 high consumption foods. *J. Food Comp. Anal.* **2002**, *15*, 715-723.
- Li, J.; Copeland, L. Role of malonate in chickpeas. *Phytochem.* **2000**, *54*, 585-589.
- Liener, I. E. Antinutritional factors in legume seeds: state of art. In *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds: state of art*; Huisman, J., Van der Poel, A. F. B., Liener, I. E., Eds. Pudoc: Wageningen, Netherlands, 1989, pp 6-13.
- Liener, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. *C. R. Food Sci. Nutr.* **1994**, *34*, 31-67.
- Liu, K.; Markakis, P. Effect of maturity and processing on the trypsin inhibitor and oligosaccharides of soybeans. *J. Food Sci.* **1987**, *52*, 222-225.

- Lönnerdal, B. Phytic acid-trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *Int. J. Food Sci. Tech.* **2002**, *37*, 749-758.
- López-Amorós, M. L., Hernández, T., Estrella, I. Bioactive compounds in germinated beans. En: *Polyphenols communications 2000*. Ed por: Martens, S.; Treuter, D.; Forkmann, G.; Freising-Weihenstephan: Alemania, **2000**; Vol. 2., 533-537.
- López-Amorós, M. L.; Hernández, T., Estrella, I. The germination process. In *Relation to the nutritional value of legumes*. E: COST Action 916. Bioactive compounds in plant foods- Health effects and perspectives for the food industry. Amadó, R., Abt, B., Bravo, L., Goñi, I., Saura-Calixto, F., Eds.; European Scientific Conference: Tenerife, España, 2001, pp 175-176.
- López-Amorós, M. L., Hernández, T., Estrella, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. *J. Food Comp. Anal.* **2006**, *19*, 277-283.
- Lotito, S.; Actis-Goretta, L.; Lourdes Renart, M.; Caligiuri, M.; Rein, D.; Schmitz, H. Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2000**, *276*, 945-951.
- Lqari, H.; Vioque, J.; Pedroche, J.; Millán, F. Lupinus angustifolius protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem.* **2002**, *76*, 349-356.
- Luthria, D.L.; Pastor-Corrales, M.A. Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *J. Food Comp. Anal.* **2006**, *19*, 205-211.
- Mahadevamma, S.; Tharanathan, R. N. Processing of legumes: resistant starch and dietary fibre contents. *J. Food Qual.* **2004**, *27*, 289-303.
- Mälkki, Y. Physical properties of dietary fiber as keys to physiological functions. *Cereal Foods World.* **2001**, *46*, 196-199.
- Malleshi, N. G.; Daodu, M. A.; Chandrasekhar, A. Development of weaning food formulations based on malting and roller drying of sorghum and cowpea. *Int. J. Food Sci. Technol.* **1989**, *24*, 511-519.
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79*, 727-747.
- Manzocco, L.; Calligaris, S.; Nicoli, M. C. Assessment of pro-oxidant activity of foods by kinetic analysis of crocin bleaching. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 2767-2771.
- Marconi, E.; Ruggeri, S.; Cappelloni, M.; Leonardi, D.; Carnovale, E. Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 5986-5994.
- Marlett, J. A.; Vollendorf, N. W. Dietary fiber content and composition of vegetables determined by two methods of analysis. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 1608-1612.
- Marquez, M. C.; Alonso, R. Inactivation of trypsin inhibitor in chickpea. *J. Food Comp. Anal.* **1999**, *12*, 211-217.

- Martín-Cabrejas, M. A. ; Jaime, L. ; Karanja, C. ; Downie, A. J. ; Parker, M. L. ; López-Andréu, F. J. ; Maina, G. ; Esteban, R. M. ; Smith, A. C. ; Waldron, K. W. Modifications to physicochemical and nutritional properties of hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.) by extrusion cooking. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 1174-1182.
- Martín-Cabrejas, M. A. ; Ariza, N. ; Esteban, R. M. ; Mollá, E. ; Waldron, K. W. ; López-Andréu, F. J. Effect of germination on the carbohydrate composition of the dietary fiber of peas (*Pisum sativum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1254-1259.
- Martín-Cabrejas, M. A. ; Sanfiz, B. ; Vidal, A. ; Molla, E. ; Esteban, R. M. ; López-Andréu, F. J. Effect of fermentation and autoclaving on dietary fiber fractions and antinutritional factors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 261-266.
- Martín-Cabrejas, M. A. ; Aguilera, Y. ; Benítez, V. ; Mollá, E. ; López-Andréu, F. J. ; Esteban, R. M. Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in legumes. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7652-7657.
- Martín-Cabrejas, M. A. ; Aguilera, Y. ; Pedrosa, M. M. ; Cuadrado, C. ; Hernández, T. ; Díaz, S. ; Esteban, R. M. The impact of dehydration process on antinutrients and protein digestibility of some legume flours. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1063-1068.
- Mathers, J. C. Pulses and carcinogenesis: potential for prevention of colon, breast and other cancers. *Br. J. Nutr.* **2002**, *88*, 272-279.
- Mauri, P. L. ; Lemolil, L. ; Gardana, C. ; Riso, P. ; Simonetti, P. ; Porrini, M. ; Pietta, P. G. Liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometric characterization of flavonol glycosides in tomato extracts and human plasma. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **1999**, *13*, 924-931.
- Mauro, D. J. An update on starch. *Cereal Foods World.* **1996**, *41*, 776-780.
- Mazu, W. M. ; Duke, J. A. ; Wahala, K. ; Rasku, S. ; Adlercreutz, H. Isoflavonoids and lignan in legumes: nutritional and health aspects in humans. *J. Nutr. Biochem.* **1998**, *9*, 193-200.
- McCance, R. A. ; Windson, E. M. The composition of food 5th. In *Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture; Fisheries and food*, 1992; pp: 240-253.
- McDonough, F. E. ; Sarwar, G. ; Steinke, F. H. ; Slump, P. ; García, S. ; Boisen, S. *In vitro* assay for protein digestibility: interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1990**, *73*, 622-625.
- McWatters, K. H. Physical and sensory characteristics of *Akara* processed from cowpea paste and Nigerian cowpea flour. *Cereal Chem.* **1983**, *60*, 333-336.
- Migliori, M. ; Gabriele, D. ; de Cindio, B. ; Pollini, C. M. Modelling of high quality pasta drying: quality indices and industrial application. *J. Food Eng.* **2005**, *71*, 242-251.
- Milán-Carrillo, J. ; Reyes-Moreno, C. ; Armienta-Rodelo, E. ; Carábez-Trejo, A. ; Mora-Escobedo, R. Physicochemical and nutritional characteristics of extruded flours from fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Lebensm.-Wiss. U.- Technol.* **2000**, *33*, 117-123.

- Molgaard, P.; Ravan, H. Evolutionary aspects of caffeoyl ester distribution in dicotyledons. *Phytochemistry*. **1988**, *27*, 2411-2413.
- Mongeau, R.; Scott, F. W.; Brassard, R. Definition and analysis of dietary fiber. In *Complex Carbohydrates in Foods*; Cho, S. S., Prosky, L., Dreher, M., Eds.; Marcel Dekker Inc: New York, 1999.
- Montgomery, R. D. Cyanogenic glucosides. In *Toxic constituents of plant foodstuffs*, edition nº 2. Liener, I. E., Eds.; Academic Press: New York, 1980; pp 143-158.
- Moros, M. C. Aportaciones al estudio de la calidad panificable de trigos y harinas. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid. **2006**.
- Mota, M.; Empis, J. Novel foods and food ingredients: what is the mission of scientists and technologists? *Trends Food Sci. Tech.* **2000**, *11*, 161-168.
- Muri, M. A.; Luffs, J. B.; Lo-Sometz, H. Patent 2004/CN1498659, **2004**.
- Mussatto, S. I.; Mancilha, I. M. Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydr. Polymer*. **2007**, *68*, 587-597.
- Narahana, K.; Narasinga-Rao, M. S. Functional properties of raw and heat processed winged bean flour. *J. Food Sci.* **1982**, *47*, 1534-1540.
- Natella, F.; Nardini, M.; Di Felice, M.; Scaccini, C. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3484-3488.
- Negi, A.; Boora, P.; Khetarpaul, N. Starch and protein digestibility of newly released moth bean cultivars: Effects of soaking, dehulling, germination and pressure cooking. *Food Nahrung*. **2001**, *45*, 251-254.
- Nickels, N. C. Process for manufacturing dehydrated precooked legumes. Patent. 2006/0263509 A1, **2006**.
- Ninfali, P.; Bacchiocca, M. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2222-2226.
- Niwa, T.; Doi, U.; Kato, Y.; Osawa, T. Antioxidative properties of phenolic antioxidants isolated from corn steep liquor. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 177-182.
- Njintang, Y. N.; Mbofung, C. M. F.; Waldron, K. W. *In vitro* protein digestibility and physico-chemical properties of dry red bean (*Phaseolus vulgaris*) flour: effect of processing and incorporation of soybean and cowpea flour. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 2465-2471.
- Njintang, Y. N.; Parker, M. L.; Moates, G. K.; Mbofung, C. M. F.; Smith, A. C.; Waldron, K. W. Rheology and microstructure of achu, a food based on taro (*Colocasia esculenta* L. Schott), as affected by method of preparation. *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86*, 902-907.
- Nyman, M. E.; Bjorck, I. M. *In vivo* effects of phytic acid and polyphenols on the bioavailability of polysaccharides and other nutrients. *J. Food Sci.* **1989**, *54*, 1332-1335.
- Olson, A.; Gray, G. M.; Mei-Chen, C. Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. *Food Technol.* **1987**, *41*, 71-80.

- Oneda, H.; Seunglae, L.; Inouye, K. Inhibitory effect of alpha-amylase inhibitor from wheat kernel on the activity of porcine pancreas α -amylase and its thermal stability. *J. Biochem.* **2004**, *135*, 421-427.
- Onweluzo, J. C.; Obanu, Z. A.; Onuoha, K. C. Functional properties of some lesser known tropical legumes. *J. Food Sci Tech.* **1994**, *31*, 302-306.
- Osborne, T. B. *The Vegetable Proteins*, edition n° 2; Longmans, Green and Co.: London, 1924; pp 154-172.
- Oshodi, A. A.; Adeladun, M. O. A. Proximate composition, some nutritional valuable minerals and functional properties of three varieties of lima bean (*Phaseolus lunatus* Linn.) flour. *Inter. J. Food Sci. Nutr.* **1993**, *43*, 181-185.
- Osorio-Díaz, P.; Bello-Pérez, L. A.; Sayazo-Ayerdi, S. G.; Benitez-Reyes, M. D. P.; Tovar, J.; Paredes-Lopez, O. Effect of processing and storage time on *in vitro* digestibility and resistant starch content of two bean varieties. *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1283-1288.
- Padmashree, T. S.; Vijahyalakshmi, L.; Puttaraja, S. Effect of traditional processing on the functional properties of cowpea flour. *J. Food Sci. Technol.* **1987**, *24*, 221-225.
- Paredes-López, O.; Ordorica-Falomir, C.; Olivares-Vazquez, M. R. Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characteristics. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 726-729.
- Patane, C.; Lacoconi, E.; Raccuia, S. A. Physico-chemical characteristics, water absorption, soaking and cooking properties of some Sicilian populations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2004**, *55*, 547-554.
- Pearson, D. Sugar and preserves. En *The Chemical Analysis of Food*; Livingstone, C., Eds. Elsevier: London, 1975; pp 107-115.
- Pedersen, B.; Eggum, B. O. Prediction of protein digestibility by *in vitro* enzymatic pH-stat procedure. *Zeitschrift Tierphysiologie Tierernahrung und Futtermittelkunde.* **1983**, *49*, 265-277.
- Pérez-Hidalgo, M. A.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B. Dietary fiber in three raw legumes and processing effect on chickpeas by enzymatic-gravimetric method. *J. Food Comp. Anal.* **1997**, *10*, 66-72.
- Peterbauer, T.; Richter, A. Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. *Seed Sci. Res.* **2001**, *11*, 185-198.
- Peters, U.; Sinha, R.; Chatterjee, N.; Subar, A. F.; Ziegler, R. G.; Kulldorff, M.; Bresalier, R.; Weissfeld, J. L.; Flood, A.; Schatzkin, A.; Hayes, R. B. Dietary fibre and colorectal adenoma in a colorectal cancer early detection programme. *Lancet.* **2003**, *36*, 1491-1495.
- Petitot, M.; Boyer, L.; Minier, C.; Micard, V. Fortification of pasta with split pea and faba bean flours: pasta processing and quality evaluation. *Food. Res. Int.* **2009**, In Press.
- Phirke, A. V.; Chavan, J. K.; Jadhar, S. J.; Salunkhe, D. K. Physical properties, chemical composition, cookability and solubilisation of proteins of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Legume Res.* **1982**, *5*, 91-96.

- Pick, K. H.; Wöber, G. In *Protein structure-function relationships in foods*. Yada, R. Y., Jackman, R. L., Smith, J. L., Eds; *Chapman & Hall*, 1995; pp 89-113.
- Piergiovanni, A. R. Effect of some experimental parameters on activity of cowpea α -amylase inhibitors. *Lebensm.-Wiss. U.- Technol.* **1992**, *25*, 321-324.
- Prinyawiwatkul, W.; Beuchat, L. R.; McWatters, K. H. Philips, R. D. Functional properties of cowpea (*Vigna unguiculata*) flour as affected by soaking, boiling, and fungal fermentation. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 480-486.
- Prodanov, M.; Sierra, I.; Vidal-Valverde, C. Effect of the germination on the thiamine, riboflavin and niacin contents in legumes. *Food Res. Tech.* **1998**, *205*, 48-52.
- Prodanov, M.; Sierra, I.; Vidal-Valverde, C. Influence of soaking and cooking on the thiamin, riboflavin and niacin contents of legumes. *Food Chem.* **2004**, *84*, 271-277.
- Pryme, I. F.; Pusztai, A.; Bardocz, S.; Ewen, S. W. The induction of gut hyperplasia by phytohaemagglutinin in the diet and limitation of tumour growth. *Histol. Histopath.* **1998**, *13*, 575-583.
- Pujolà, M.; Farreras, A.; Casañas, F. Protein and starch content of raw, soaked and cooked beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.* **2007**, *102*, 1034-1041.
- Pusztai, A.; Bardocz, S.; Martín-Cabrejas, M. A. The mode of action of ANFs on the gastrointestinal tract and its microflora. En *Proceedings of the fourth international workshop on antinutritional factors in legume seeds and oilseeds*. Muzquiz, M., Hill, G. D., Cuadrado, C., Pedrosa, M. M., Burbano, C., Eds.; EAAP: Wageningen, **2004**; pp 87-100.
- Quemener, B.; Brillouet, J. M. Ciceritol, a pinitol digalactoside from chickpea, lentil and white lupin. *Phytochem.* **1983**, *22*, 1745-1751.
- Quesada, C.; Bartolomé, B.; Nieto, O.; Gómez-Cordovés, C.; Hernández, T.; Estrella, I. Phenolic inhibitors of α -amylase and trypsin enzymes by extracts from pears, lentils and cocoa. *J. Food Protec.* **1995**, *59*, 185-192.
- Rangel, A.; Domont, G. B.; Pedrosa, C.; Ferreira, S. T. Functional properties of purified vicilins from cowpea (*Vigna unguiculata*) and pea (*Pisum sativum*), and cowpea protein isolate. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 5792-5797.
- Rapusas, R. S.; Driscoll, R. H. Thermophysical properties of fresh and dried white onion slices. *J. Food Eng.* **1995**, *24*, 149-164.
- Ratnayake, W. S.; Hoover, R.; Shahid, F.; Perera, C.; Jane, J. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of starchs from four field peas (*Pisum sativum* L.) cultivars. *Food Chem.* **2001**, *74*, 189-202.
- Rauha, J. P.; Remes, S.; Heinonen, M.; Copia, A.; Kahkonen, M.; Kujala, T.; Pihlaja, K.; Vuorela, H. Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int. J. Food Microbiol.* **2000**, *56*, 3-12.
- Reddy, N. R.; Sathe, S. K.; Pierson, M. D. Removal of phytate from Great Northern beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its combined density fraction. *J. Food Sci.* **1988**, *53*, 107-110.

- Rehman, S.; Paterson, A.; Hussain, S.; Murtaza, M. A.; Mehmood, S. Influence of partial substitution of wheat flour with vetch (*Lathyrus sativus* L.) flour on quality characteristics of doughnuts. *Food Sci. Tech.* **2007**, *40*, 73-82.
- Rehman, Z.; Rashid, M.; Shah, W. H. Insoluble dietary components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. *Food Chem.* **2004**, *85*, 245-249.
- Rehman, Z.; Shah, W. H. Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chem.* **2005**, *91*, 327-331.
- Rehman, Z. Domestic processing effects on available carbohydrate content and starch digestibility of black grams (*Vigna mungo*) and chickpeas (*Cicer arietium*). *Food Chem.* **2007**, *100*, 764-767.
- Reilly, C. Functional foods -a challenge for consumers. *Trends Food Sci. Technol.* **1994**, *5*, 121-123.
- Ribéreau-Gayón, P.; Stonestreet, E. Dosage des tannins du vin rouges et détermination de leur structure. *Chem. Anal.* **1965**, *48*, 188-196.
- Ricardo-da-Silva, J. M.; Cheynier, V.; Souquet, J. M.; Moutounet, M. Interaction of grape seed procyanidins with various proteins in relation to wine fining. *J. Sci. Food Agric.* **1991**, *57*, 111-125.
- Rickard, S. E.; Thompson, L. U. Interactions and biological effects of phytic acid. In *Antinutrients and phytochemicals in food*; Shahidi, F., Eds.; ACS symposium series, American Chemical Society: Washington, DC, 1997; pp 294-312.
- Riemer, J.; Whittaker, J. B. Air pollution and insect herbivores: observed interactions and possible mechanism. In *Insect-Plant Interactions*; Bernays, E. A., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, 1989; pp 74-98.
- Ring, S. G.; Gee, J. M.; Whittam, M.; Orford, P.; Johnson, I. T. Resistant starch: its chemical form in foodstuffs and effect on digestibility in vitro. *Food Chem.* **1988**, *28*, 97-109.
- Roberfroid, M. B. Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *71*, 1660-1664.
- Robertson, G. L.; Monredon, F. D.; Dysseler, P.; Guillon, F.; Amado, R.; Thibault, J-F. Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensm.-Wiss. u.- Technol.* **2000**, *33*, 72-79.
- Rostami, A.; Kennedy, A. R. Use of Bowman-Birk Inhibitor for the treatment of multiple sclerosis and other autoimmune diseases. US Patent US2004/142050, **2004**.
- Rothenborg, E.; Ekman, S.; Bulow, M.; Moller, K.; Svantesson, J.; Wendin, K. Texture-modified meat and carrot for elderly people with dysphagia: preference in relation to health and oral status. *Food Nutr. Res.* **2007**, *51*, 141-147.
- Rubio, L. A.; Rodriguez, J.; Fernández, C.; Crespo, J. F. Storage proteins: physiological and antigenic effects. EAAP publication n°. 110: Toledo, Spain. 2004, pp 159-175.

- Rubio, L. R.; Pedrosa, M. M.; Cuadrado, C.; Gelencser, E.; Clemente, A.; Burbano, C.; Muzquiz, M. Recovery at the terminal ileum of some legume non-nutritional factors in cannulated pigs. *J. Sci. Food Agric.* **2006**, *86*, 979-987.
- Rycroft, C. E.; Jones, M. R.; Gibson, G. R.; Rastall, R. A. A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. *Soc. Appl. Microbiol.* **2001**, *91*, 878-887.
- Salmoral, E. M.; González, M. E.; Mariscal, M. P.; Medina, L. F. Comparison of chickpea and soy protein isolate and whole flour as biodegradable plastics. *Ind. Crops Prod.* **2000**, *11*, 227-236.
- Salunke D. K.; Kadam, S. S. CRC Handbook of world food legumes: nutritional chemistry processing technology and utilization. CRC Press, INC Boca Ratón: Florida, 1989; Vol. I, pp 5-25.
- Sánchez-Mata, M. C.; Peñuela-Teruel, M. J.; Cámara-Hurtado, M.; Díez-Marqués, C.; Torija-Isasa, E. Determination of mono-, di-, and oligosaccharides in legumes by high-performance liquid chromatography using an amino-bonded silica column. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3648-3652.
- Sánchez-Mata, M. C.; Cámara, M. M.; Díez-Marqués, C. Effect of domestic processes and water hardness on soluble sugars contents of chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Chem.* **1999**, *65*, 331-338.
- Sánchez-Vioque, R.; Clemente, A.; Vioque, J.; Bautista, J.; Millán, F. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem.* **1999**, *64*, 237-243.
- Saris, W. H. M. Glycemic carbohydrate and body weight regulation. *Nutr. Rev.* **2003**, *61*, 10-16.
- Sarkanen, K. W.; Ludwig, C. H. In *Lignins: occurrence, formation, structure and reactions*. Sarkament, K. V., Lidwig, C. H., Eds.; Wiley Interscience: Nueva York, 1971; pp 1-18.
- Sasaki, T.; Matsuki, J. Effect of wheat starch structure on swelling power. *Cereal Chem.* **1998**, *75*, 525-529.
- Sathe, S. K.; Salunkhe, D. K. Functional properties of four types of mung bean flours. *J. Sci. Food Agric.* **1981**, *32*, 175-180.
- Sathe, S. K.; Deshpande, S. S.; Salunkhe, D. K. Functional properties of winged bean proteins. *J. Food Sci.* **1982**, *47*, 503-508.
- Sathe, S. K. Dry bean Protein Functionality. *Crit. Rev. Biotech.* **2002**, *22*, 175-223.
- Savage, G. P.; Knowler, R.; Eisert, M.; Goulden, D. Effect of processing on the composition, nutritive value and trypsin inhibitor content of chickpeas grown in New Zealand. Proc. 2nd European Conference on grain legumes: Copenhagen, Denmark, 1995; pp 330-331.
- Seena, S.; Sridhar, K. R. Physicochemical, functional and cooking properties of under explored legumes, *Canavalia* of the southwest coast of India. *Food Res. Int.* **2005**, *38*, 803-814.

- Selvendran, R. R.; Robertson, J. A. Dietary fiber in foods: amount and type. In *Proceedings. Metabolic and physiological aspects of dietary fiber in food*; Amado, R., Barry, J., Frolich, W., Eds.; Marsella, Francia, 1994; pp 11-25.
- Senthil, A.; Ravi, R.; Bhat, K. K.; Seethalakshmi, M. K. Studies on the quality of fried snacks based on blends of wheat flour and soya flour. *Food Qual. Pref.* **2002**, *13*, 267-273.
- Shahidi, F. Food phenolics and their role in antioxidation and health promotion. In *Polyphenols communications*. El Hadrami, I., Eds.; Marrakech, Marruecos, 2002; Vol I, pp 257-258.
- Sharma G. P., Prasad, S. Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave-hot air combination. *J. Food Eng.* **2001**, *50*, 99-105.
- Shrikhande, A. J. Wine by products with health benefits. *Food Res. Int.* **2000**, *33*, 469-474.
- Sies, W.; Stahl, W.; Sundquist, A.R. Antioxidant functions of vitamins; vitamin E and C, β -carotene, and other carotenoids. In *New Views on the Function and Health Effects of Vitamins*; Savberlich, H. E., Machlin, L. Y., Eds.; Beyond Deficiency, Annals of the New York Academy of Sciences: New York, 1992; pp 7-20.
- Singh, U.; Veraputhaporan, W.; Rao, P.; Jambunathan, R. Physicochemical characteristics of pigeonpea and mungbean starches and their noodle quality. *J. Food Sci.* **1989**, *54*, 1293-1297.
- Singh, U.; Singh, B. Functional properties of sorghum peanut composite flour. *Cereal Chem.* **1991**, *68*, 460-463.
- Singh, U.; Seetha, R. Oil absorption and sensory properties of a snack food from chickpea genotypes. *J. Food. Sci.* **1993**, *58*, 853-855.
- Singh, U. Functional properties of grain legume flours. *J. Food Sci. Technol.* **2001**, *38*, 191-199.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic phosphotungstic acid reagent. *Am. J. Enol. Vitic.* **1965**, *16*, 144-158.
- Slavin, J. L. Dietary fiber and body weight. *Nutr.* **2005**, *21*, 411-418.
- Soetrisno, U. S. S.; Holmes, Z. A. Functional properties of acid and salt extracted proteins of yellow peas (*Pisum sativum* L. Miranda). *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 975-980.
- Somiari, R. I.; Balogh, E. Effect of soaking, cooking and crude α -galactosidase treatment on the oligosaccharide content of cowpea flours. *J. Sci. Food Agric.* **1993**, *61*, 339-343.
- Sotomayor, C.; Frías, J.; Fornal, J.; Sadowska, J.; Urbano, G.; Vidal-Valverde, C. Lentil starch content and its microscopical structure as influenced by natural fermentation. *Starch.* **1999**, *5*, 152-156.
- Souza, J. S.; Medeiros, M. F. D., Magalhães, M. M. A., Rodrigues, S.; Fernandes, F. A. N. Optimization of osmotic dehydration of tomatoes in a ternary system followed by air-drying. *J. Food Eng.* **2007**, *4*, 501-509.
- Sreerama, Y. N.; Sasikala, V. B.; Pratape, V. M. Expansion properties and ultrastructure of legumes: effect of chemical and enzyme pre-treatments. *Food Sci. Tech.* **2008**, *42*, 44-49.

- Standley, L.; Winterton, P.; Marnewick, J. L.; Gerlerblom, W. C. A.; Joubert, E.; Britz, T. J. Influence of processing stages on antimutagenic and antioxidant potentials of rooibos tea. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 114-117.
- Su, H. L.; Chang, K. C. Physicochemical and sensory properties of dehydrated bean paste products as related to bean varieties. *J. Food Sci.* **1995**, *60*, 764-794.
- Suzuki, H.; Sakane, I.; Hosoyama, H.; Sugimoto, A.; Nagata, K.; Tsunoda, T. Patent: 2003/JP2003095941. **2003**.
- Swain, T.; Hills, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **1959**, *10*, 63-68.
- Swaisgood, E.; Catignani, L. G. Protein digestibility: *In vitro* methods of assessment. In *Advances in Food and Nutrition Research*; Kinsella, J. E., Eds.; Academic Press: San Diego, 1991; Vol. 35, pp 185-230.
- Tabera, J.; Frías, J.; Estrella, I.; Villa, R.; Vidal-Valverde, C. Natural fermentation of lentils. Influence of time, concentration and temperature on protein content, trypsin inhibitor activity and phenolic compounds content. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A.* **1995**, *201*, 587-591.
- Tester, R. F.; Morrison, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effect of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry.* **1990**, *67*, 551-557.
- Tharanathan, R. N.; Mahadevamma, S. Grain legumes, a boon to human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.* **2003**, *14*, 507-518.
- Thebaudin, J. Y.; Lefebvre, A. C.; Harrington, M.; Bourgeois, C. M. Dietary fibre: nutritional and technological interest. *Trends Food Sci. Technol.* **1997**, *8*, 41-48.
- Thompson, L. U. Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Res. Int.* **1993**, *26*, 131-149.
- Thompson, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends Food Sci. Technol.* **2000**, *11*, 245-253.
- Tolstoguzov, V. B. In *Functional Properties of Food Macromolecules*; Mitchell, J. R., Ledward, D.A., Ed.; Elsevier Applied Science Publishers: London, 1986; pp 385-415.
- Tovar, J.; Melito, C. Steam-cooking and dry heating produce resistant starch in legumes. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 2642-2645.
- Troszynska, A.; Estrella, I.; López-Amorós, M. L.; Hernández, T. Antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) seed coat acetone extract. *LWT.* **2002**, *35*, 158-164.
- Trugo, L. C.; Muzquiz, M.; Ayet, G.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; Cavieres, C. Influence of malting on selected components of soya bean, black bean, chickpea and barley. *Food Chem.* **1999**, *65*, 85-90.
- Tsamo, C. V. P.; Bilame, A-F.; Ndjouenkeu, R.; Nono, Y. J. Study of material transfer during osmotic dehydration of onion slices (*Allium cepa*) and tomato fruits (*Lycopersicon esculentum*). *Food Sci. Technol.* **2005**, *38*, 495-500.

- Turgeon, S.; Beaulieu, M. Improvement and modification of whey protein gel texture using polysaccharides. *Food Hydrocol.* **2001**, *15*, 583-591.
- Urbano, G.; Aranda, P.; Gómez-Villalva, E.; Frejnagel, S.; Porres, J.; Frías, J.; Vidal-Valverde, C.; López-Jurado, M. Nutritional evaluation of pea (*Pisum sativum L.*) protein diets after mild hydrothermal treatment and with and without added phytase. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2415-2420.
- Ursini, F.; Tubaro, F.; Rong, J.; Sevanian, A.; Optimization of nutrition: polyphenols and vascular protection. *Nutr. Rev.* **1999**, *57*, 241-249.
- Utrilla-Coello, R. G.; Osorio-Díaz, P.; Bello-Pérez, L. A. Alternative use of chickpea flour in breadmaking: chemical composition and starch digestibility of bread. *Food Sci. Tech. Int.* **2007**, *13*, 323-327.
- Van Loo, F.; Cummings, J.; Delzenne, N.; Englyst, H.; Fran, A.; Hopkins, M.; Kok, N.; Macfarlane, G.; Newton, D.; Quigley, M.; Roberfroid, M.; Van Vliet, C.; Van den Heuvel, E. Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br. J. Nutr.* **1999**, *81*, 121-132.
- Vasanathan, T.; Hoover, R. Effect of the fattening on starch structures and physicochemical properties. *Food Chem.* **1992**, *45*, 337-342.
- Vatter, D. A.; Shetty, K. Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2003**, *4*, 331-338.
- Vega-Mercado, H.; Góngora-Nieto, M. M.; Barbosa-Cánovas, G. V. Advances in dehydration of foods. *J. Food Eng.* **2001**, *49*, 271-289.
- Vidal-Valverde, C.; Frías, J. Legumes processing effects on dietary fiber components. *J. Food Sci.* **1991**, *56*, 1350-1352.
- Vidal-Valverde, C.; Frías, J.; Esteban, R. Dietary fibre in processed lentils. *J. Food Sci.* **1992**, *57*, 1161-1163.
- Vidal-Valverde, C.; Frías, F.; Estrella, I.; Gorospe, M. J.; Ruíz, R.; Baco, J. Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *J. Agric. Food Chem.* **1994**, *42*, 2291-2297.
- Vidal-Valverde, C.; Frías, J.; Sotomayor, C.; Díaz-Pollán, C.; Fernández, M.; Urbano, G. Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *Z. Lebensm. Unters Forsch. A.* **1998**, *207*, 140-145.
- Vidal-Valverde, C.; Sierra, I.; Frías, J.; Prodanov, M.; Sotomayor, C.; Hedley, C. L.; Urbano, G. Nutritional evaluations of lentil flours obtained after short-time soaking processes. *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *214*, 220-226
- Vijayakumari, K.; Siddhuraju, P.; Janardhanan, K. Effect of domestic processing on the levels of certain antinutrients in *Prosopis chilensis* (Molina) Stunz seeds. *Food Chem.* **1997**, *59*, 367-371.

- Vinson, J. A.; Dabbagh, Y. A.; Serry, M. M.; Jang, J. Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *J. Agric. Food Chem.* **1995**, *43*, 2800-2802.
- Vioque, J.; Sánchez-Vioque, R.; Pedroche, J.; Yust, M. M.; Millán, F. Obtención y aplicaciones de concentrados y aislados proteicos. *Grasas y aceites.* **2001**, *52*, 127-131.
- Voutsinas, L. P.; Nakai, S. A simple turbidimetric method for determining the fat binding capacity of proteins. *J. Agric. Food Chem.* **1983**, *31*, 58-65.
- Waldia, R. S.; Singh, V. P.; Sood, D. R.; Sardana, P. K.; Mehla, I. S. Association and variation among cooking quality traits in kabuli Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J. Food Sci. Technol.* **1996**, *33*, 397-402.
- Wang, N.; James, K. D.; Malcolmson, L. J. Relationship between physicochemical and cooking properties, and effects of cooking on antinutrientes, of yellow field peas (*Pisum sativum*). *J. Sci. Food Agric.* **2003**, *83*, 1228-1237..
- Wang, W.; González de Mejia, E. A new frontier in soy bioactive peptides that may prevent age-related chronic diseases. *Comprehensive reviews in food science and food safety (CRFSFS).* **2005**, *4*, 63-78.
- Wang, W.; Bringe, N. A.; Berhow, M. A.; González de Mejia, E. β -conglycinins among sources of bioactives in soybean hydrolysates that inhibit leukemia cells in vitro. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 4012-4020.
- Ware, J. H.; Wan, X. S.; Newberne, P.; Kennedy, A. R. Bowman-Birk inhibitor concentrate reduces colon inflammation in mice with dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis. *Dig. Dis. Sci.* **1999**, *44*, 986-990.
- web: www.agrodigital.com. **2002**.
- web: www.fao.org. **2009**.
- web: www.marm.es. **2009**.
- Were, L.; Hettiarachchy, L.; Kalapathy, U. Modified soy proteins with improved foaming and water hydration properties. *J. Food Sci.* **1997**, *62*, 821-824.
- Weststrate, J. A.; van Poppel, G.; Verschuren, P. M. Functional foods, trends and future. *Br. J. Nutr.* **2002**, *88*, 233-235.
- Wiermann, R. Secondary plant products and cell and tissue differentiation. *In The Biochemistry of Plants*; Conn, E. E., Eds.; Academic Press: New York, 1981; Vol 7, pp 85-116.
- Williams, S. G. The role of phytic acid in the wheat grain. *Plant Physiol.* **1970**, *45*, 376-381.
- Williams, P. C.; Nakoul, H.; Singh, K. B. Relationship between cooking time and some physical characteristics in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *J. Sci. Food Agric.* **1983**, *34*, 492-496.
- Wolf, W. J. Soybean proteins: Soybean proteins: their functional, chemical, and physical properties. *J. Agric. Food Chem.* **1970**, *18*, 969-976.

- Wu, H. Studies on Denaturation of Proteins XIII. A Theory of Denaturation. *Adv. Prot. Chem.* **1995**, *46*, 6-26.
- Xu, B. J.; Chang, S. K. C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *J. Food Sci.* **2007**, *72*, 159-166.
- Xu, B. J.; Chang, S. K. C. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. *Food Chem.* **2008a**, *110*, 1-13.
- Xu, B. J.; Chang, S. K. C. Total phenolic content and antioxidant properties of eclipse black beans (*Phaseolus vulgaris L.*) as affected by processing methods. *J. Food. Sci.* **2008b**, *2*, 19-27.
- Yamagishi, T.; Yamauchi, F.; Shibasaki, K. Isolation and partial characterization of heat-denatured products of soybean 1 IS globulin and their analysis of electrophoresis. *Agric. Biol. Chem.* **1980**, *44*, 1575-1561.
- Yatsumatsu, K.; Sawda, K.; Moritaka, S.; Mikasi, M.; Tada, J.; Wada, T.; Ishi, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric. Biol. Chem.* **1972**, *36*, 719-727.
- Yong-Soon, C.; Bung-Hoon, L.; Jong-Hwa, K.; Nam-Soo, K. Concentracion of phytoestrogens in soybeans and soybean products in Korea. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 1709-1712.
- Yoon, J. H.; Thompson, L. U.; Jenkins, D. J. A. The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose response. *Am. J. Clin. Nutr.* **1983**, *38*, 835-842.
- Yoshida, T.; Hirai, Y.; Hayashi, S.; Hatano, T.; Ito, H. Anti-Helicobacter pylori activity of tanins and related polyphenols. In *Polyphenols communications 2000*; Martens, S., Treutter, D., Farkman, G., Eds.; Groupe Polyphenols: Burdeos, Francia, 2000; Vol I, 309-311.
- Yu, J.; Ahmedna, M.; Goktepe, I.; Dai, J. Peanut skin procyanidins: composition and antioxidant activities as affected by processing. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 364-71.
- Zhou, J. R.; Erdman, J. W. Phytic acid in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1995**, *35*, 459-508.
- Zulet, M. A.; Martínez, J. A. Dieta Mediterránea: legumbres y colesterolemia. *Rev. Chil. Nutr.* **2001**, *28*, 312-320.

VIII. ANEXO

1. TABLAS

- *Capítulo 1*

Tabla I. Características morfológicas de las legumbres frescas

Legumbre	Aspecto	Tamaño	Color	Dimensiones (mm)		
				Longitud	Anchura	Grosor
Garbanzo Sinaloa	Redondo Irregular	Medio	Tostado Claro	11,9 ± 0,7	11,5 ± 0,5	9,0 ± 0,6
Garbanzo Castellano	Circular	Pequeño	Tostado Claro	6,5 ± 0,2	6,5 ± 0,2	5,5 ± 0,1
Lenteja Pardina	Circular	Pequeño	Pardo	5,5 ± 0,3	5,5 ± 0,2	2,5 ± 0,2
Judía Cannellini	Arriñonada	Medio	Crema	15,5 ± 0,5	8,5 ± 0,1	3,0 ± 0,2
Judía Pinta	Arriñonada	Medio	Marrón con manchas granate	11,0 ± 0,3	7,5 ± 0,3	4,5 ± 0,1

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Están.d.ar (n = 6).

- *Capítulo 4*

Tabla II. Efecto del procesado sobre el tamaño del gránulo de almidón (μm)

Legumbre	Crudo	Remojo	Remojo+ Cocción	Remojo+ Cocción+ Deshidratación
Garbanzo Sinaloa	17,1 ± 2,9 ^a	22,3 ± 2,1 ^a	125,0 ± 6,1 ^c	98,1 ± 7,5 ^b
Garbanzo Castellano	19,1 ± 2,1 ^a	23,7 ± 2,7 ^a	120,3 ± 8,4 ^c	93,1 ± 7,1 ^b
Lenteja Pardina	22,0 ± 3,0 ^a	77,7 ± 8,1 ^b	121,1 ± 3,7 ^c	89,4 ± 8,0 ^b
Judía Cannellini	29,2 ± 2,8 ^a	30,8 ± 3,1 ^a	107,4 ± 5,9 ^b	104,1 ± 9,2 ^b
Judía Pinta	31,4 ± 2,5 ^a	36,1 ± 3,0 ^a	109,6 ± 6,6 ^b	100,1 ± 6,8 ^b

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Están.d.ar (n = 6).

- *Capítulo 6*

Tabla III. Correlaciones establecidas con la densidad aparente en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	DA- Almidón Disponible
Garbanzo Sinaloa	0,96***
Garbanzo Castellano	0,92***
Lenteja Pardina	0,54 n.s.
Judía Cannellini	0,40 n.s.
Judía Pinta	0,75**

Tabla IV. Correlaciones establecidas con la capacidad de retención de aceite en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CRAC- PROT	CRAC- Almidón Disponible
Garbanzo Sinaloa	0,67*	0,65 n.s.
Garbanzo Castellano	0,34 n.s.	0,18 n.s.
Lenteja Pardina	0,06 n.s.	-0,10 n.s.
Judía Cannellini	-0,15 n.s.	0,70*
Judía Pinta	0,17 n.s.	0,13 n.s.

Tabla V. Correlaciones establecidas con la capacidad de retención de agua en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CRA-FI	CRA-FT	CRA- Almidón Disponible	CRA- Proteína
Garbanzo Sinaloa	0,87**	0,85**	0,97***	0,85**
Garbanzo Castellano	0,95***	0,95***	0,93***	-0,27 n.s.
Lenteja Pardina	0,95***	0,93***	0,90***	0,94***
Judía Cannellini	0,56 n.s.	0,52 n.s.	0,64 n.s.	0,12 n.s.
Judía Pinta	0,55 n.s.	0,45 n.s.	< 0,5 n.s.	0,22 n.s.

Tabla VI. Correlaciones establecidas con la capacidad de absorción de agua en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CA-FT	CA- Almidón Disponible
Garbanzo Sinaloa	0,92***	0,84**
Garbanzo Castellano	0,95***	0,90***
Lenteja Pardina	0,84**	0,67*
Judía Cannellini	0,81**	0,66*
Judía Pinta	0,3 n.s.	0,08 n.s.

Tabla VII. Propiedades físico-químicas y funcionales de harinas de leguminosas frescas y procesadas.

	CH (%)	CEm (%)	CE (%)	CG (%)
Garbanzo Sinaloa				
C	1,70 ± 0,10 ^a	22,9 ± 1,00 ^c	24,0 ± 2,00 ^b	8,0 ± 0,10 ^a
R	1,80 ± 0,10 ^a	11,1 ± 1,00 ^b	24,0 ± 2,00 ^b	8,0 ± 0,10 ^a
R+C	3,10 ± 0,15 ^b	7,2 ± 0,50 ^a	8,0 ± 0,50 ^a	12,0 ± 1,00 ^b
R+C+D	3,50 ± 0,10 ^b	6,9 ± 0,5 ^a	8,0 ± 0,50 ^a	12,0 ± 1,00 ^b
Garbanzo Castellano				
C	2,50 ± 0,15 ^a	12,3 ± 1,00 ^d	40,0 ± 3,00 ^c	8,0 ± 0,15 ^a
R	3,00 ± 0,15 ^b	9,4 ± 0,60 ^c	32,0 ± 2,50 ^b	8,0 ± 0,10 ^a
R+C	4,00 ± 0,10 ^c	6,8 ± 0,50 ^b	20,0 ± 2,00 ^a	12,0 ± 1,20 ^b
R+C+D	5,00 ± 0,10 ^d	4,1 ± 0,30 ^a	20,0 ± 1,50 ^a	14,0 ± 0,90 ^b
Lenteja Pardina				
C	2,30 ± 0,10 ^a	47,4 ± 3,50 ^c	40,0 ± 2,00 ^c	8,0 ± 0,10 ^a
R	3,30 ± 0,10 ^b	5,3 ± 0,30 ^b	32,0 ± 2,00 ^b	8,0 ± 0,10 ^a
R+C	3,50 ± 0,15 ^b	5,3 ± 0,40 ^b	20,0 ± 1,00 ^a	12,0 ± 0,80 ^b
R+C+D	5,10 ± 0,20 ^c	1,8 ± 0,10 ^a	20,0 ± 1,50 ^a	13,0 ± 1,20 ^b
Judía Blanca				
C	1,00 ± 0,10 ^a	4,0 ± 0,10 ^b	40,0 ± 3,00 ^b	12,0 ± 1,00 ^a
R	2,00 ± 0,10 ^b	5,8 ± 0,30 ^c	40,0 ± 3,20 ^b	13,0 ± 1,20 ^a
R+C	3,50 ± 0,10 ^c	1,0 ± 0,10 ^a	32,0 ± 2,50 ^a	14,0 ± 1,20 ^a
R+C+D	4,00 ± 0,10 ^d	1,0 ± 0,10 ^a	30,0 ± 3,00 ^a	16,0 ± 1,30 ^a
Judía Pinta				
C	2,00 ± 0,15 ^a	4,3 ± 0,30 ^b	48,0 ± 3,50 ^b	12,0 ± 1,00 ^a
R	2,50 ± 0,20 ^b	6,1 ± 0,50 ^c	40,0 ± 3,00 ^a	13,0 ± 1,00 ^a
R+C	3,50 ± 0,20 ^c	0,9 ± 0,05 ^a	40,0 ± 3,50 ^a	14,0 ± 1,00 ^a
S+C+D	4,50 ± 0,10 ^d	1,0 ± 0,05 ^a	36,0 ± 3,50 ^a	16,0 ± 1,30 ^a

Los valores medios de cada columna con letras distintas son estadísticamente diferentes según el test de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$). Valor Medio ± Desviación Estándar ($n = 6$).

Tabla VIII. Correlaciones establecidas con la capacidad de hinchamiento en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CH- Almidón Disponible
Garbanzo Sinaloa	0,94***
Garbanzo Castellano	0,96***
Lenteja Pardina	0,77**
Judía Cannellini	0,88***
Judía Pinta	0,68*

Tabla IX. Correlaciones establecidas con la capacidad emulsionante en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CEm -FS	CEm - Proteína	CEm - Prot Sol
Garbanzo S	-0,33 n.s.	-0,66*	0,93***
Garbanzo C	-0,9***	-0,13 n.s.	0,76**
Lenteja Pardina	0,84**	-0,14 n.s.	0,68*
Judía Cannellini	-0,78**	0,64 n.s.	0,73*
Judía Pinta	-0,72**	0,82**	0,84**

Tabla X. Correlaciones establecidas con la capacidad espumante en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	CE - Proteína Soluble
Garbanzo Sinaloa	0,81**
Garbanzo Castellano	0,88***
Lenteja Pardina	0,96***
Judía Cannellini	0,91***
Judía Pinta	0,87***

Tabla XI. Correlaciones establecidas con la mínima capacidad de gelificación en las muestras de leguminosas durante el proceso de deshidratación.

Legumbre	MCG-PROT	MCG- Almidón Disponible	MCG-LIPIDOS
Garbanzo Sinaloa	0,83**	0,95***	0,83**
Garbanzo Castellano	-0,18 n.s.	0,98***	0,99***
Lenteja Pardina	0,90***	0,77**	0,92***
Judía Cannellini	-0,44 n.s.	0,69*	0,95***
Judía Pinta	-0,59 n.s.	0,61 n.s.	0,95***

2. LISTA DE PUBLICACIONES

- Martín-Cabrejas, M. A.; Aguilera, Y.; Benítez, V.; Mollá, E.; López-Andréu, F. J.; Esteban, R. M. Effect of industrial dehydration on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in legumes. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 7652-7657.
- Martín-Cabrejas, M. A.; Aguilera, Y.; Pedrosa, M. M.; Cuadrado, C.; Hernández, T.; Díaz, S.; Esteban, R. M. The impact of dehydration process on antinutrients and protein digestibility of some legume flours. *Food Chem.* **2009**, *114*, 1063-1068.
- Aguilera, Y.; Martín-Cabrejas; Benítez, V.; Mollá, E.; López-Andréu, F. J.; Esteban, R. M. Changes in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *J. Food Comp. Anal.* **2009**, *22*, 678-683.
- Aguilera, Y.; Esteban, R. M.; Benítez, V.; Mollá, E.; Martín-Cabrejas. Starch, Functional Properties and Microstructural Characteristics in Chickpea and Lentil as Affected by Thermal Processing. *J. Agric. Food Chem.* **2009**. En prensa.