



Evaluación de la adición de germinados de Frijol mungo (*Vigna radiata*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc

Calvache Punguil, Estefanía Solange

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Vargas Arboleda, Martha Cecilia Mgtr.

06 de Septiembre del 2023



Frijol mungo (*Vigna radiata*), es una leguminosa cultivada por sus semillas comestibles, su gran contenido nutricional, y mejorando la salud.

Las bebidas a base de suero igualmente poseen un gran contenido nutricional y pueden ser combinadas con saborizantes, zumos de frutas y germinados de alguna especie vegetal.



JUSTIFICACIÓN

El suero de leche representa un gran contaminante para el medio, el acceso limitado de los pequeños productores a la tecnología y la desnutrición crónica infantil, es una de las mayores problemáticas que enfrenta el país. Por ello este proyecto pretende realizar una bebida biofortificada con zinc a base de suero de leche con germinados de Frijol mungo.

Objetivo General



Establecer el efecto de la adición de germinado biofortificado de frijol mungo (*Vigna radiata*) al suero de leche para obtener una bebida biofortificada con zinc.

Objetivos Específicos



Obtener el germinado de frijol mungo (*Vigna radiata*) biofortificado mediante impregnación de zinc ($0 \mu\text{M}$, $25 \mu\text{M}$, $50 \mu\text{M}$, $75 \mu\text{M}$ y $100 \mu\text{M}$) en la semilla para su aplicación tecnológica



Liofilizar y pulverizar los germinados para elaborar la bebida biofortificada



Determinar la vida útil del producto mediante pruebas de estantería y evaluación organoléptica



Determinar la cantidad de zinc residual en el producto terminado (equipo de absorción atómica)



H0: El suero de leche enriquecido con germinados biofortificados de frijol mungo (*Vigna radiata*) con 0 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM y 100 μM de zinc no aumenta la cantidad de zinc residual, tiempo de vida útil ni la aceptación del producto final.

H1: El suero de leche enriquecido con germinados biofortificados de frijol mungo (*Vigna radiata*) con 0 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM y 100 μM de zinc aumenta al menos una de las variables a evaluar en el producto final.

ORIGEN

Se centra en Asia, siendo su país de origen Irán

TAXONOMÍA

Pertenece a la familia Fabaceae, del género *Vigna*, especie *radiata*. comúnmente conocida como Frijol mungo



Vigna radiata

Morfología

Planta anual, hojas alternadas y trifoliadas, tallo erecto, inflorescencias en racimo de flores amarillas, su fruto es una vaina delgada pubescente

USOS

Pueden ser implementados en la dieta: cocidos, enteros, germinados o harinas

¿Qué es?

Se entiende por la parte líquida de la leche que queda después de separar la leche cuajada en la fabricación del queso

Tipos de suero de leche

Suero dulce
Suero ácido



Suero de leche

Usos

Implementación en dietas proteicas, bebidas, postres.

Valor nutricional

Está compuesto por proteína, grasa, lactosa, caseína, cenizas y sólidos totales

UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS



La investigación se realizó en el laboratorio de fisiología vegetal y principios activos y en la planta de procesamiento de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I, ubicado en la Hacienda El Prado, en la parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, con una temperatura de 21 °C y una humedad de 52%.



Manejo de la semilla

- 1000 gr de frijol mungo
- Se excluyeron todas aquellas que presentaban anomalías en su testa, color y si presentaban algún tipo de daños físico, ocasionado por insectos o en el momento de su cosecha



Proceso de desinfección

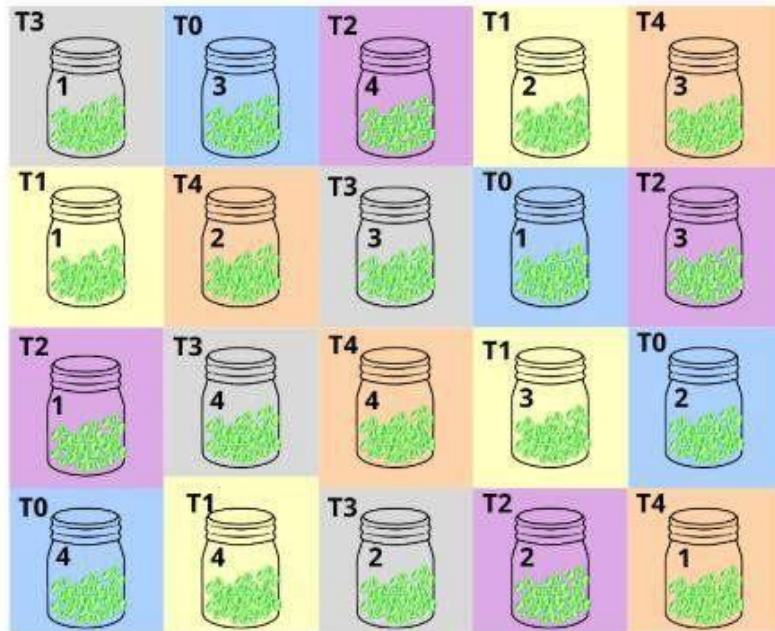
- hipoclorito de sodio al 0.8% durante 7 minutos con agitación constante.
- Se enjuagó con agua destilada y esteril durante 7 minutos en intervalos de 3. 1. 3 minutos con recambios de agua.



Preparación de tratamientos

- 200 gr de semilla seca para cada tratamiento
- impregnación con sulfato de zinc ($ZnSO_4$)

Tratamiento	Dosis Zn (μM)
T0	0
T1	25
T2	50
T3	75
T4	100



Nota. T₀ (0μM), T₁ (25μM), T₂ (50μM), T₃ (75μM), T₄

(100μM). Autoría propia

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = media general

Z_i = efecto de la i –ésima concentración de Zn

ε_{ij} = Error experimental

Diseño experimental y Análisis estadístico

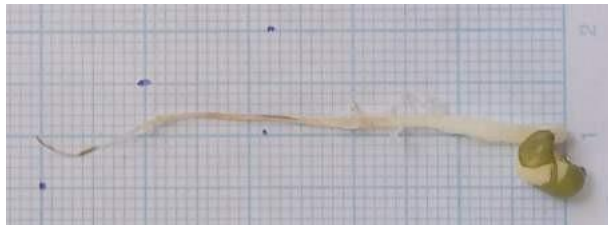
- Diseño completamente al azar (DCA) con cuatro repeticiones.
- Unidad experimental un frasco de vidrio de 200 ml.
- Se utilizó una prueba paramétrica no exacta “Duncan” al 5%.



Porcentaje de germinación

- Evaluado a los 6 días
- una sola vez
- una muestra de 100 brotes de cada repetición

$$\text{Porcentaje de germinación} = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número total de semillas}} \times 100$$



Longitud radicular

- Se tomó al 6 día.
- Medida desde el hipocótilo hasta el final de la radícula



Peso fresco

- Pesadas al 6 día de su establecimiento.

$$\text{Rendimiento biológico} = \left(\frac{F_w}{M} \right) \times 100$$

Donde:

F_w = Peso fresco total de la semilla

M = Peso de las semillas utilizadas en cada tratamiento





Liofilización

- Se realizó en el laboratorio de Conservación y posrecolección
- Se deshidrató durante 12 horas a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 20 pulg Hg



Rendimiento liofilizado

- Fue estimado tomando en cuenta el peso liofilizado total con respecto al peso fresco

$$\text{Rendimiento liofilizado} = \left(\frac{F_w}{M} \right) \times 100$$

Donde:

F_w = Peso liofilizado total de la semilla

M = Peso de las semillas germinadas en cada tratamiento



Contenido de ácido fítico

Se peso 2 gr del liofilizado triturado anteriormente de cada tratamiento

Se mezcló con 50 ml de HCl al 2% en matraces de 125 ml

Colocadas en una incubadora con agitación orbital a 21.7°C y 125 rpm durante 3 horas.



$$\text{Fitato de fosforo} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Valor de la titulación} \times 1.95$$

$$\text{Fitato} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \text{Fitato de fosforo} \times 3.55$$

Titulación con FeCl al 1.95 mg.ml⁻¹, agitando suavemente hasta obtener una coloración amarillenta

Filtró con papel Whatman #1, se mezcló con 2,5 ml de agua destilada



Análisis estadístico

- Diseño completamente al azar (DCA)
- Para la comparación entre tratamientos se utilizó una prueba paramétrica no exacta “Duncan” y una prueba no paramétrica “Kruskal Wallis” ambas pruebas con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis fueron realizados mediante el programa InfoStat.

$$Y_{ij} = \mu + Z_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = media general

Z_i = efecto de la i – é sima concentración de Zn

ε_{ij} = Error experimental

Preparación de la Bebida

El suero se pasteurizó a una temperatura de 63 °C por 30 minutos, se filtró, y se dispensó en envases de vidrio de 105 ml

Se llevó a baño maría durante 20 minutos, provocando de esta manera un sellado hermético



Ingredientes	Cantidad	Porcentaje
Suero de Leche	40 ml	53.03
Pulpa de Piña (FRUTASI)	26.67 ml	36.53
Azúcar blanca	6 gr	2.6
Harina liofilizada	2 gr	7.8
Esencia de Vainilla	1 gota (~ 30µl)	0.04



Determinación del pH

- Evaluado a los 0 días, 2 días, 7 días y 21 días.



Sólidos Solubles Totales

- Evaluado a los 0 días, 2 días, 7 días y 21 días.



Medición del sobrenadante

- Evaluado a los 0 días, 2 días, 7 días y 21 días.
- Se implementó un escalímetro



Contenido de Zn

Se consideraron 10 muestras, las cuales fueron deshidratadas en una estufa durante 24 h.

Se peso 3 gr y se sometieron a calcinación en una mufla a 600°C, durante 4 horas

Se añadió 10 ml de agua destilada y 2 ml de HCl al 2%



Biodisponibilidad de Zinc

Para estimar la biodisponibilidad de zinc, se utiliza una relación entre la cantidad molar de ácido fítico y zinc.

Se implementó un Kit de zinc HI3854 de HANNA
Absorbancias con una calibración de 580 nm.

Se llevó a ebullición en una estufa y se filtró utilizando papel whatman #1 con agua destilada hasta 50 ml

$$AF:Zn = \frac{mmol\ AF}{mmol\ Zn}$$

$$Zn \left(\frac{mg}{l} \right) = 20.246 \times (U. Abs) - 3.0574$$



Características organolépticas

- Fue evaluada por 5 voluntarios
- Tolerantes a la lactosa, sin alergias a alguno de los componentes de la bebida.
- Se envió un formulario de Google forms.



Apariencia

Aroma

consistencia

Sabor

Cada subdivisión fue evaluada del 0 al 10 siendo 0 muy desagradable y 10 muy agradable.



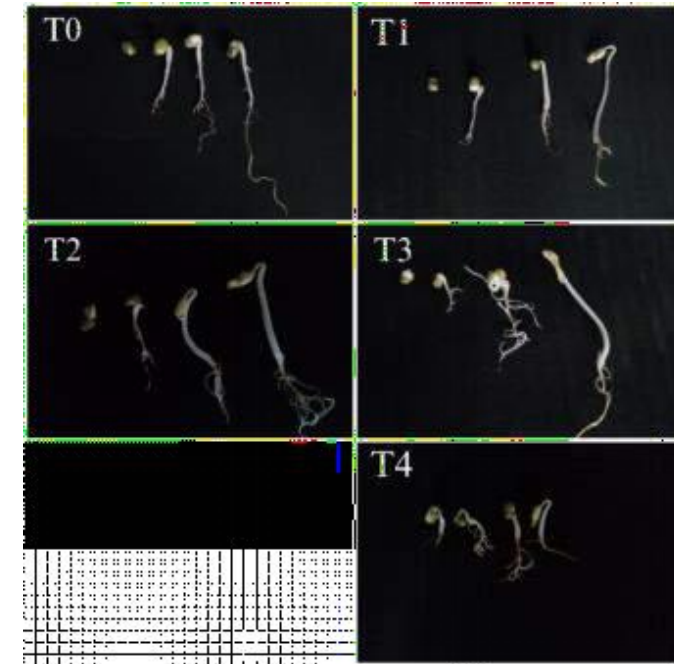
Porcentaje de germinación y longitud de radícula

- El porcentaje de germinación el tratamiento T3 (75 μ M) obtuvo un mayor valor, mientras que el tratamiento con menor porcentaje de germinación fue T4 (100 μ M)
- El tratamiento T3 (75 μ M) presentó una longitud de la radícula mayor al resto de tratamientos, con una media de 7.67 cm.

Tratamiento	Germinación (%)	Longitud de la radícula
T_0 : 0 μ M	87.25 \pm 1.71 ab	4.95 \pm 0.91 b
T_1 : 25 μ M	89.50 \pm 1.29 bc	4.95 \pm 0.91 b
T_2 : 50 μ M	91.00 \pm 1.83 c	6.88 \pm 1.11 c
T_3 : 75 μ M	91.75 \pm 1.50 c	7.67 \pm 1.01 c
T_4 : 100 μ M	86.50 \pm 2.38 a	3.33 \pm 0.68 a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$),

mediante una comparación de medias Duncan. Autoría propia.



Loaiza (2023) si observa diferencias en frijol mungo, de igual manera Salvatierra (2022) en su estudio realizado en alfalfa. Sin embargo Wei et al. (2012) menciona que con concentraciones inferiores a 150 Zn. L-1, no existen diferencias, de estas variables en arroz.

Rendimiento Biológico y Rendimiento liofilizado

El rendimiento biológico superó en todos los tratamientos el 100%, mientras que el rendimiento liofilizado alcanzó un máximo del 45%

Tratamiento	Rendimiento biológico (%)	Rendimiento liofilizado (%)
$T_0: 0 \mu M$	$228.50 \pm 4.43 \ b$	$45.93 \pm 1.42 \ c$
$T_1: 25 \mu M$	$213 \pm 5.77 \ a$	$28.66 \pm 1.64 \ a$
$T_2: 50 \mu M$	$218.62 \pm 6.26 \ ab$	$37.31 \pm 4.60 \ b$
$T_3: 75 \mu M$	$225.00 \pm 12.91 \ ab$	$35.04 \pm 2.32 \ b$
$T_4: 100 \mu M$	$225 \pm 4.76 \ ab$	$34.92 \pm 1.79 \ b$

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$),

mediante una comparación de medias Duncan. Autoría propia

López Veloza (2020) obtuvo un rendimiento biológico promedio de 211.99% y 53.91% en peso seco en arveja.
Ávila Guaman y Litardo Fernández (2018) reporta una pérdida de 13% previamente tostado y molido en frijol mungo.



Ácido fítico, contenido y biodisponibilidad de Zn

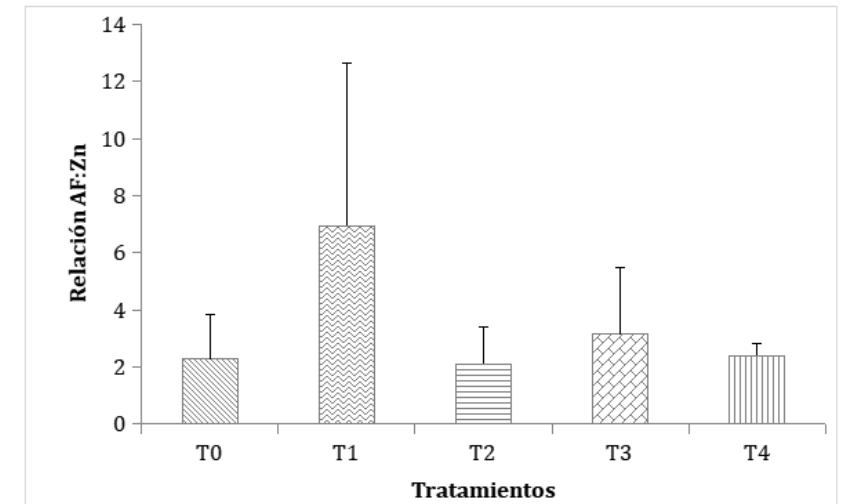
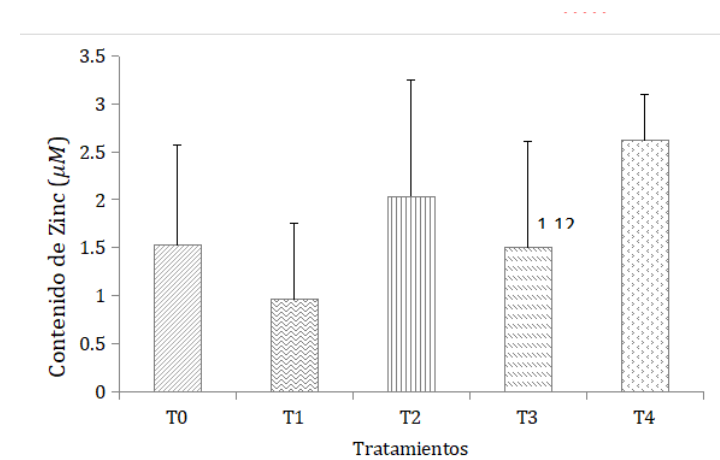
Tratamientos	Ácido Fítico mg. 100g-1	Contenido de Zinc (mg.L-1)	Relación AF:Zn
$T_0: 0 \mu M$	2.08	1.53 ± 1.05	2.27 ± 1.55
$T_1: 25 \mu M$	3.46	0.96 ± 0.79	6.93 ± 5.68
$T_2: 50 \mu M$	2.77	2.03 ± 1.22	2.12 ± 1.27
$T_3: 75 \mu M$	2.66	1.50 ± 1.12	3.15 ± 2.35
$T_4: 100 \mu M$	4.85	2.62 ± 0.47	2.41 ± 0.43

Nota. Autoría propia

Relación Molar AF:Zn	Biodisponibilidad de Zn
> 30	10 %
15 – 30	15 %
5 – 15	30 %
< 5	> 50 %

Nota. Recuperado de Borelli et al. (2007)

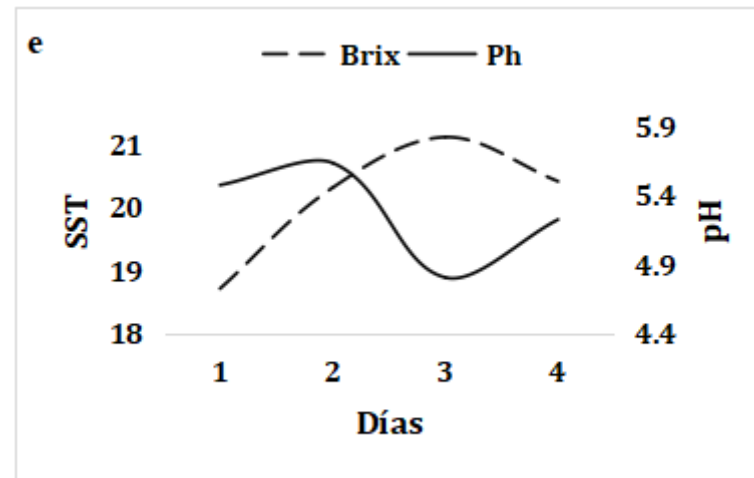
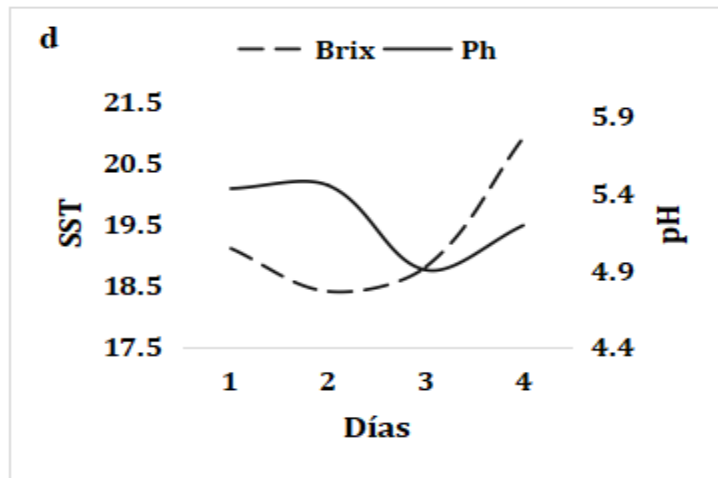
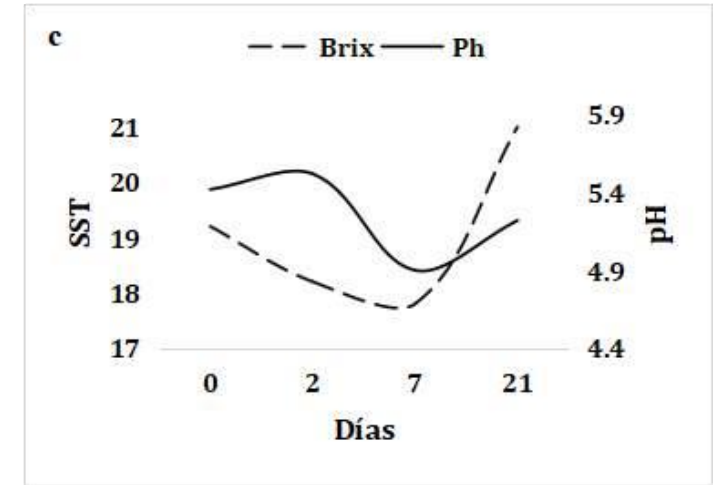
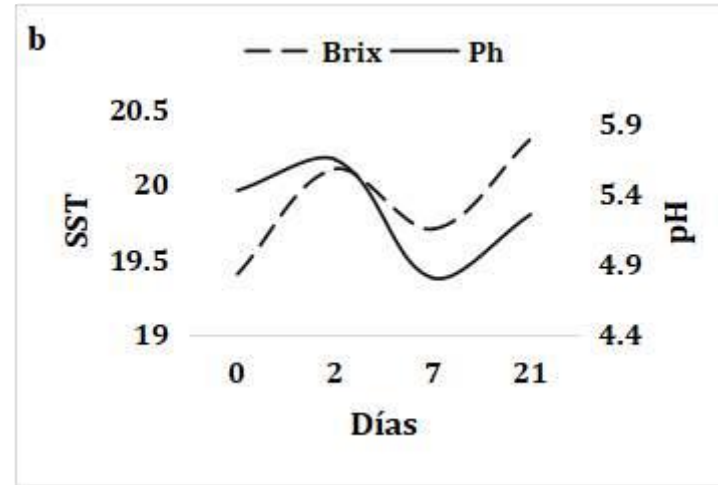
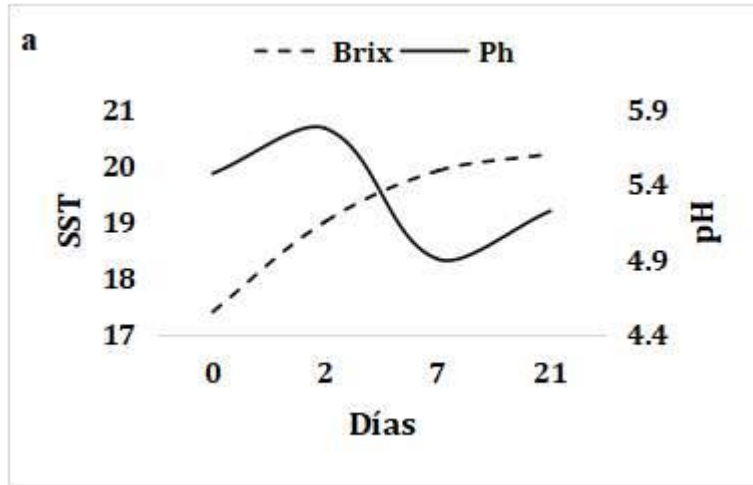
Loiza, M (2023) presentó diferencias significativas entre los tratamientos, en las tres variables



II FASE

pH y Sólidos Solubles Totales

RESULTADOS Y DISCUSIÓN



- Gavilanes López et al., (2018) aumenta el porcentaje de suero en la bebida, disminuye el pH.
- Ávila Guamán y Litardo Fernández, (2018) 70% de almidón
- Pérez Rubio, (2011) indica que al someter a los granos a calor el almidón se desdobra aumentando el ataque enzimático α -amilasa

Nota. a. T00 μ M, b. T125 μ M, c. T250 μ M, d. T375 μ M, e. T4100 μ M.

Autoría propia

Sobrenadante de la bebida

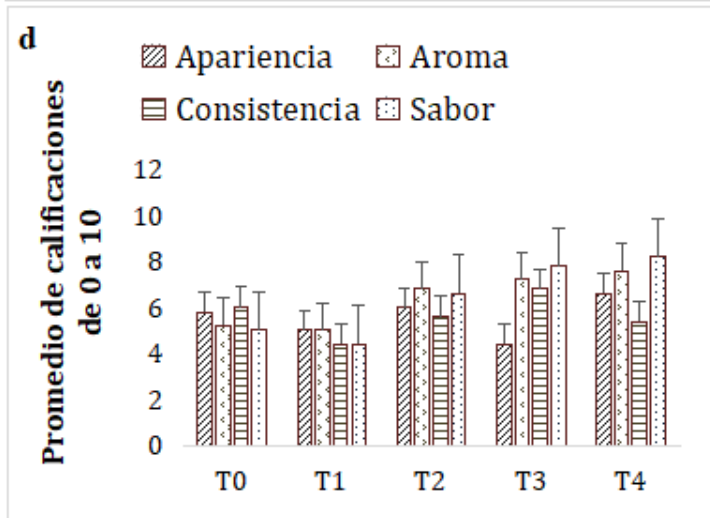
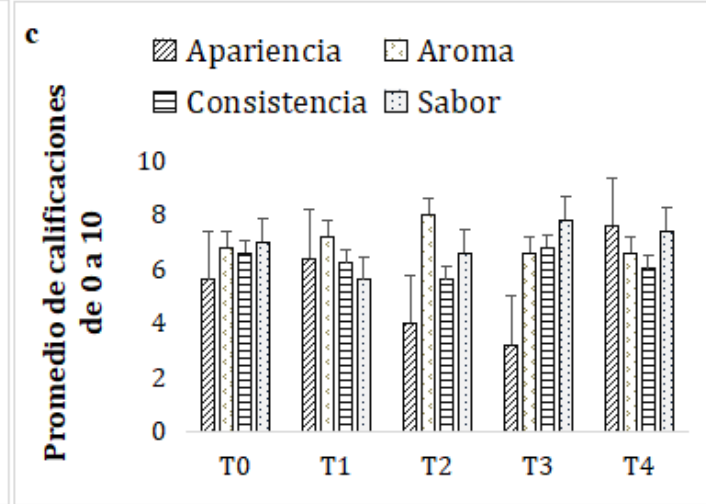
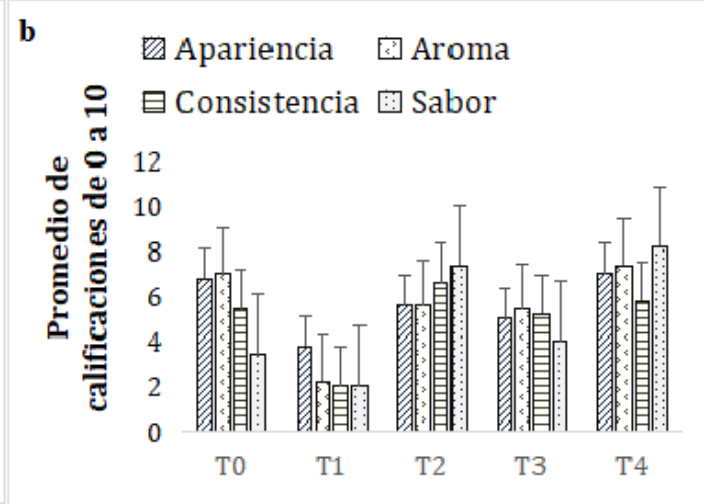
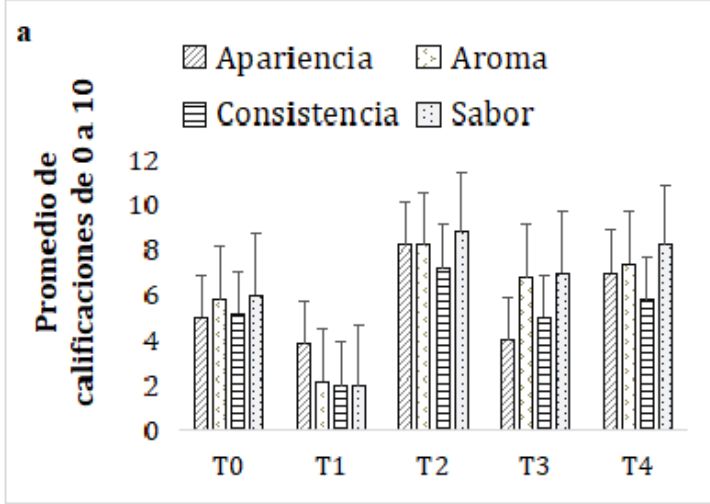
Tratamiento	Tiempo (Días)	Promedio del sobrenadante (cm)
T0	0-2	0.8
	2-7	0.1
	7-21	0
	Total	0.90
T1	0-2	0.7
	2-7	0.05
	7-21	0
	Total	0.75
T2	0-2	0.75
	2-7	0.15
	7-21	0
	Total	0.90
T3	0-2	0.85
	2-7	0.05
	7-21	0
	Total	0.90
T4	0-2	0.7
	2-7	0.12
	7-21	0
	Total	0.82

Nota. Autoría propia



El sobrenadante en las bebidas aumentó conforme pasaba el tiempo, al séptimo día llegó a estabilizarse.
Islam et al., (2021) mayor separación a partir de los 49 a 56 días.

Características organolépticas



La aceptación de la bebida está difirió entre los miembros evaluadores, esto se debe a las preferencias personales de cada uno, sin embargo, en general el sabor no tuvo una alta aceptabilidad, ya que mucho de los catadores manifestaron un sabor fuerte de germinados, los cuales no son tan apetecibles para la población por su sabor amargo de igual manera en cuanto a su olor.



La aplicación de (ZnSO_4) en semillas de frijol mungo (*Vigna radiata*) aumentó el porcentaje de germinación y longitud de la radícula, siendo el tratamiento T3 $75\mu\text{M}$ de Zn. El rendimiento biológico superó el 200%, mientras que el rendimiento liofilizado tuvo una pérdida del 53%, El tratamiento T2 presentó una disponibilidad mayor al 50% de zinc con una relación molar de 2.12mM de ácido fítico



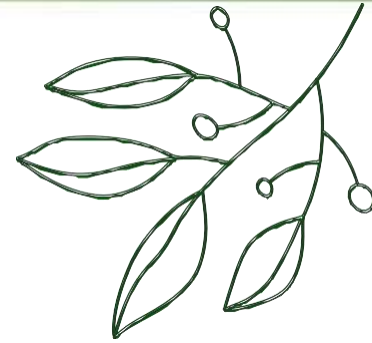
La implementación de germinados de frijol mungo (*Vigna radiata*) a la bebida, no afectó a la cantidad de zinc, ni sus propiedades fisicoquímicas, ni su vida útil, sin embargo, la adicción de estos germinados tuvo un efecto relativamente negativo en la bebida por otorgarles un sabor amargo. El pH, SST y sobrenadante demostró que incluso a los 21 días las bebidas se mantenían en óptimas condiciones



La bebida realizada no puede ser considerada como biofortificada, ya que no cumple con el mínimo establecido por la normativa INEN 1334 que establece un mínimo del 10% del nutriente añadido del valor diario recomendado

- Se sugiere la implementación de 50 μM de (ZnSO_4) en semillas de frijol mungo para aumentar la biodisponibilidad de Zn y ser utilizado como fuente de alimento.
- Se recomienda realizar más experimentos con diferentes dosis de ZnSO_4 para establecer una dosis que asegure la fortificación del mineral y realizar pruebas microbiológicas que ayuden a complementar los parámetros que aseguren la inocuidad, junto con la viabilidad del producto
- Para declarar un producto biofortificado en el Ecuador no solo debería evaluar el contenido nutrimental de los alimentos si no también estimar y cuantificar su biodisponibilidad.





GRACIAS!

