



Desarrollo e evaluación nutricional, funcional y sensorial de un alimento tipo tempeh formulado a partir de feijão-frade e semente de abóbora fermentado con *Rhizopus oligosporus*, cultivados en Yucatán, México

Desarrollo y evaluación nutricional, funcional y sensorial de un alimento tipo tempeh formulado a partir de frijol espelón y semillas de calabaza fermentadas con *Rhizopus oligosporus*, cultivado en Yucatán, México.

Osorio Di Gianluca, S. M.¹, Jacobo Solís, J.A.¹, Piña Betancourt, E.¹, Ku Padilla, F.C.¹, Gamboa Gamboa, M.N.¹, Vázquez Perera, D.¹, Gullian-Klanian, M.², Vázquez Rodríguez, J.A.³, López Hernández A.A.³, Moo-Huchin, V.M.¹ e Sauri-Duch, E.^{1*}

¹Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Mérida, ²Universidad Marista de Mérida, Yucatán, ³Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

*e-mail: emilio.pina.b@gmail.com, enrique.sd@merida.tecnm.mx



INTRODUCCIÓN

La milpa maya, sistema agroalimentario ancestral de la península de Yucatán, produce cultivos de alto valor nutricional como el frijol espelón (*Vigna unguiculata*) y la semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*), ricos en proteína, lípidos de calidad, minerales y compuestos bioactivos, pero actualmente subutilizados frente a los productos industrializados. Paralelamente, la demanda global de alimentos de origen vegetal, con mínimo procesamiento y alta densidad nutricional, crece de forma sostenida. En este escenario, el tempeh (alimento tradicional indonesio obtenido por fermentación en estado sólido con *Rhizopus oligosporus*) se destaca por su elevado contenido proteico, mayor digestibilidad, superior biodisponibilidad de nutrientes y reducción de antinutrientes en relación a la materia prima original. Investigaciones recientes demuestran que es posible elaborar tempeh con sustratos distintos a la soja, obteniendo perfiles nutricionales y sensoriales comparables o superiores. Por ello, este trabajo propone desarrollar un alimento tipo tempeh a partir de mezclas de frijol espelón y semilla de calabaza, integrando la valorización de la milpa maya con la innovación en alimentos funcionales de origen vegetal.

OBJETIVO

Objetivo General
Desarrollar un alimento saludable tipo tempeh, a partir de frijol espelón (*Vigna unguiculata* L. Walp) y semilla de calabaza (*Cucurbita argyrosperma*), obtenidos de la milpa Maya, mediante el cultivo del hongo *Rhizopus oligosporus*.

ANTECEDENTES

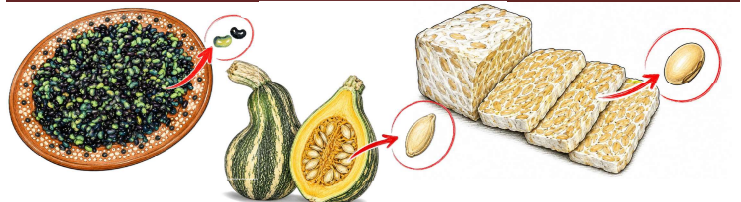


Figura 1. Valorización de materias primas subutilizadas de origen mesoamericano mediante fermentación en estado sólido: espelón, semilla de calabaza criolla y tempeh resultante. El frijol espelón (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.) y la semilla de calabaza criolla (*Cucurbita argyrosperma*) comparten el destino de millones de toneladas de alimentos que se descartan anualmente por razones sanitarias o nutricionales, sino por criterios estéticos: tamaño irregular, coloración heterogénea, calibre fuera de estándar comercial o simple desconocimiento del consumidor urbano. Se estima que entre el 20 y el 40% de la producción agrícola en países en desarrollo se pierde antes de llegar al consumidor por no cumplir estándares cosméticos de mercado (FAO, 2019), convirtiéndose los denominados alimentos de segunda en una de las principales fuentes de pérdida nutricional y económica en la cadena agroalimentaria. El espelón, leguminosa nativa del sureste mexicano con alto contenido proteico (21–24% en base seca) y perfil de aminoácidos complementario a cereales, es frecuentemente desechado por variedades de frijol de mayor rentabilidad comercial, relegándose a mercados locales o autoconsumo. La semilla de calabaza criolla, rica en ácidos grasos insaturados, zinc y fitoesteroles, suele desecharse como subproducto durante el procesamiento del fruto. La fermentación con *Rhizopus oligosporus* (tempeh) representa una estrategia de biotransformación que eleva el valor nutricional de estas materias primas incrementando la digestibilidad proteica, reduciendo antinutrientes, aumentando la capacidad antioxidante y transformando ingredientes marginados en un producto de alto valor agregado, contribuyendo a la reducción de pérdidas alimentarias y a la revalorización de la agrodiversidad mesoamericana.

MATERIALES Y MÉTODOS

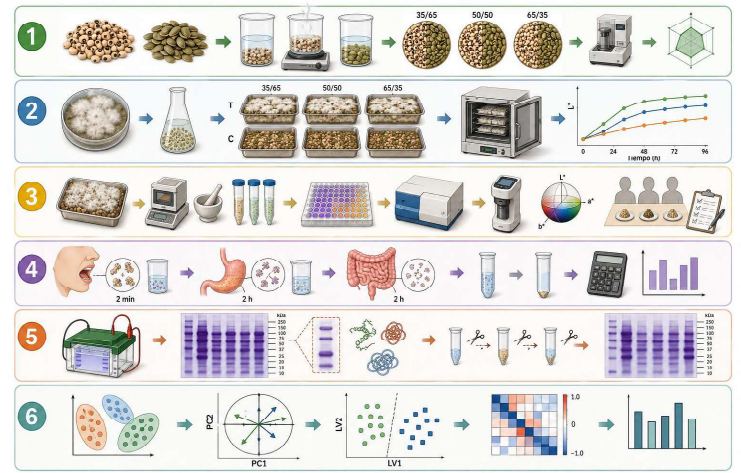


Figura 2. Esquema metodológico del desarrollo y caracterización de un producto tipo tempeh a partir de mezclas de frijol espelón (*Vigna unguiculata*) y semilla de calabaza criolla (*Cucurbita argyrosperma*) fermentadas con *Rhizopus oligosporus*. **Etapas:** 1. Colecta de materias primas (frijol espelón y semilla de calabaza sin cáscara), pretratamiento (cocción del frijol 60 min a 70 ± 3 °C, proporción 1:10 granuosa; remojo 60 min para la semilla) y formulación de tres mezclas en proporciones espelón/calabaza de 35/65, 50/50 y 65/35 (p/p). Caracterización proximal: humedad, proteína cruda (Kjeldahl), lípidos crudos, cenizas, fibra cruda (digestión ácido-alcalina) y extracto libre de nitrógeno por diferencia. **Etapas 2.** Inoculación con esporas de *R. oligosporus* y fermentación en estado sólido durante 96 h (25–30 °C) bajo las tres proporciones de mezcla, con sus respectivos controles no inoculados (C). Se empleó pH como indicador indirecto de síntesis de biomasa fúngica. **Etapas 3.** Caracterización de compuestos bioactivos, poder reductor y evaluación sensorial en mezclas fermentadas y controles. Los compuestos fenólicos solubles totales (CFST) se cuantificaron mediante el método 4SDP (4-clorouro de 4-sulfonilfuro diazonio; Piña-Betancourt et al., en revisión), basado en la sustitución aromática electrofílica del reactivo diazonizado sobre los anillos fenólicos activados en medio alcalino, con formación de azocompuestos coloreados (Ar–N=N–Ar) y expresados en mg equivalentes de ácido gálico/g (mg EAG/g). Los flavonoides totales se determinaron por la formación de quelatos entre Al³⁺ y los grupos cetona en C-4 e hidroxilos en C-3/C-5 de flavonas y flavonoles, expresados en mg equivalentes de catequina/g (mg ECG). Los taninos condensados totales se cuantificaron mediante fracción de captura con polivinilpirrolidona, expresados en mg/g base seca. El poder reductor se evaluó mediante el ensayo FRAP, que mide la reducción del complejo Fe³⁺-TPTZ a su forma ferrosa Fe²⁺-TPTZ (λ = 593 nm) en tampón acetato pH 3.6 por mecanismo de transferencia de electrones, sin discriminar entre clases de antioxidantes, expresado en μmol equivalentes de Trolox/g (μmol TE/g). La capacidad sequestradora de radicales libres se determinó mediante el ensayo DPPH, que cuantifica la decoloración del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo a su forma reducida (DPPH-H) por cesión de átomos de hidrógeno o electrones, expresada en μmol TE/g. El color superficial se midió en el espacio CIELAB (L, a, b*). La evaluación sensorial se realizó con 50 panelistas no entrenados mediante escala hedónica de 9 puntos para apariencia, textura, sabor, olor y aceptación general, comparando las tres formulaciones frente a un control de tempeh de soja comercial. **Etapas 4.** Digestión in vitro estática mediante el protocolo INFOGEST 2019 (Brodkorb et al., 2019), simulando secuencialmente las fases oral, gástrica e intestinal. Se calculó el Índice de Digestibilidad Proteica (PDI) = Proteína × Digestibilidad × Bioaccesibilidad, g proteína bioaccesible/100 g muestra seca). **Etapas 5.** Electroforesis desnaturalizante SDS-PAGE de las materias primas individuales, las mezclas sin fermentar, los tempeh de las tres proporciones y las fracciones obtenidas en cada fase de la digestión in vitro (sin digerir, fase gástrica, fase intestinal). Se empleó como marcador de masa molecular Precision Plus Protein Kaleidoscope (Bio-Rad, 10–250 kDa). **Etapas 6.** Análisis estadístico multivariado. Se aplicó Análisis Multivariado de la Varianza (MANOVA, estadísticos de Lambda de Wilks, traza de Pillai, traza de Hotelling-Lawley y raíz mayor de Roy) bajo el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$, con ANOVA tipo II y comparación múltiple de Tukey ($\alpha = 0.05$) por variable respuesta. El tamaño del efecto parcial se estimó como η^2 (umbral de efecto grande: $\eta^2 \geq 0.14$). El ordenamiento multivariado se realizó mediante Análisis de Componentes Principales (ACP) con escalamiento estándar, complementado con Análisis Discriminante por Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA) y mapa de correlaciones de Pearson.

Agradecimientos

Agradecemos al Tecnológico nacional de México – Instituto Tecnológico de Mérida por las instalaciones brindadas para llevar a cabo la investigación y al Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP) por la financiación otorgada para la realización del proyecto.

RESULTADOS

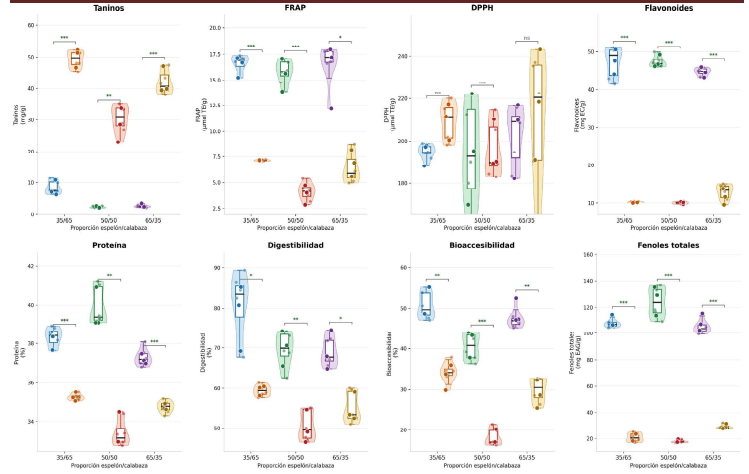


Figura 3. Variación de características de calidad y compuestos bioactivos en tempeh de espelón (*Vigna unguiculata*)/calabaza (*Cucurbita argyrosperma*) según proporción de mezcla y tratamiento de fermentación. Taninos (mg EAG/g), FRAP (μmol TE/g), DPPH (μmol TE/g), Flavonoides (mg ECG), Proteína (%), Digestibilidad in vitro (%), Bioaccesibilidad proteica (%) y Fenoles totales (mg EAG/g). Cada violín representa la distribución de datos por grupo; la caja interior muestra la mediana (línea oscura central), el rango intercuartil y los bigotes (±1.5 IQR). Fermentado (tonos fríos) y Sin fermentar (control, tonos cálidos) se presentan apareados por proporción espelón/calabaza (35/65, 50/50, 65/35). Los corchetes superiores indican la significancia estadística entre tratamientos ANOVA tipo II con corrección de Tukey: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ns = no significativo.

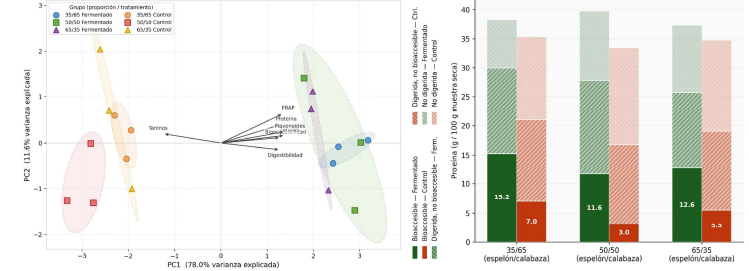


Figura 4. Análisis de componentes principales y fraccionamiento de la proteína bioaccesible en tempeh de espelón/calabaza fermentado con *Rhizopus oligosporus*. Panel A. Biplot de Análisis de Componentes Principales (ACP) sobre variables estandarizadas. El efecto global de la fermentación sobre la calidad nutricional y bioactiva, PC2 (11.6%) captura variación residual asociada principalmente a la capacidad antioxidante por DPPH. Los vectores biplot muestran la dirección y magnitud de la contribución de cada variable; las elipses sombreadas delimitan los grupos por tratamiento al 95% de confianza. Panel B. Diagrama de barras apiladas de la proteína total (g/100 g muestra seca) desglorada en tres fracciones: proteína bioaccesible, proteína digerida no bioaccesible y proteína no digerida. Los valores en los segmentos basales corresponden al Índice de Digestibilidad Proteica (PDI, g proteína bioaccesible/100 g muestra seca), calculado como el producto de contenido proteico, digestibilidad y bioaccesibilidad.

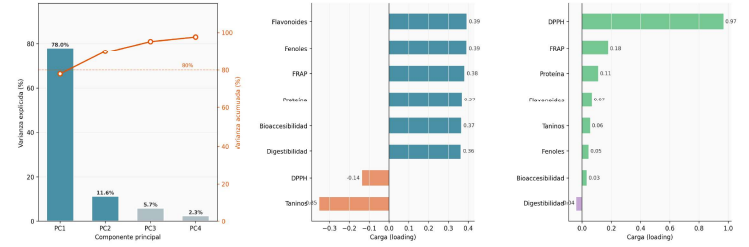


Figura 5. Diagrama de Pareto y cargas factoriales de los dos primeros componentes principales en el análisis de calidad multivariado del tempeh de espelón/calabaza. Panel A. Las barras representan el porcentaje de varianza explicada individualmente por cada componente principal; la línea naranja muestra la varianza acumulada. La línea discontinua representa el umbral convencional del 80% de varianza acumulada. Tratamiento B y C. Diagramas de barras divergentes de las cargas estandarizadas del PC1 y PC2, respectivamente, ordenadas de mayor a menor contribución. Los valores numéricos corresponden al loading estandarizado de cada variable.

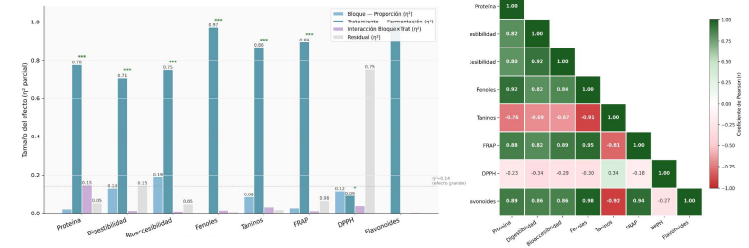


Figura 6. Magnitud del efecto de los factores experimentales y correlación entre variables de calidad del tempeh de espelón/calabaza. Panel A. Tamaño del efecto parcial (η^2 parcial) estimado mediante ANOVA tipo II para los factores Bloque (proporción espelón/calabaza), Tratamiento (fermentación) e Interacción Bloque X Tratamiento sobre ocho respuestas (Proteína, Digestibilidad, Bioaccesibilidad, Fenoles totales, Taninos, FRAP, DPPH, Flavonoides). La línea punteada horizontal señala el umbral convencional de efecto grande ($\eta^2 \geq 0.14$; Cohen, 1988). Los asteriscos sobre las barras del factor Tratamiento indican significancia estadística (*p<0.05, **p<0.001). Panel B. Mapa de calor del triángulo inferior de la matriz de correlaciones de Pearson entre las mismas ocho variables. La escala de color va de rojo intenso (r=1) a verde intenso (r=-1); los valores en cada celda corresponden al coeficiente r de Pearson.

CONCLUSIONES

Se desarrolló satisfactoriamente un alimento tipo tempeh a partir de mezclas de frijol espelón y semilla de calabaza fermentadas con *Rhizopus oligosporus*. La fermentación fue el factor dominante en todas las variables (Wilks' Lambda < 0.0001, F aprox. = 89.33, p < 0.001), explicando más del 90 % de la varianza multivariante. La proteína incrementó entre +2.5 y +6.3 pp con la fermentación. La digestibilidad proteica mejoró entre +10.6 y +20.2 pp. La bioaccesibilidad aumentó entre +13.9 y +23.6 puntos porcentuales, siendo el mejor resultado también 35/65 con 50.8 %. En la proteína digerible-bioaccesible, la proporción 35/65 (tempeh) alcanzó 15.3 g/100g, superando en +11% a la referencia de soja tempeh (13.8 g/100g). En cuanto a bioactivos, la fermentación redujo taninos (-87 %) y aumentó fenoles totales (+5x) y FRAP (+2.4x).

Contenido suplementario



REFERENCIAS

