

Uso potencial de harina de quinchoncho germinada y fermentada para la elaboración de un paté

Potential use of germinated and fermented pigeon pea flour in the manufacture of a pate

M.P. Piñero C., K. Parra Q., Y.M. Barboza, E. Arévalo, S. Méndez

Laboratorio de Bromatología y Tecnología de Alimentos, adscrito al Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Nutrición (LIND). Facultad de Medicina. Escuela de Nutrición y Dietética. LUZ. Apartado: 526. Maracaibo, Venezuela.

Resumen

Se evaluó la incorporación de harinas de quinchoncho germinadas (PG) y fermentadas con *Lactobacillus plantarum* (PF) sobre el mejoramiento de las propiedades nutritivas y funcionales de un paté bajo en grasa, comparando con un control (PC) y un estándar de carne (PE). Se realizó análisis proximal; ácido fitico, fenoles, digestibilidad proteica, y análisis sensorial de los productos. Para el análisis proximal, no se encontraron diferencias estadísticas entre el PG y PF con el PC. Ácido fitico disminuyó en los productos PG y PF. Los fenoles aumentaron en el PG ($P<0,05$). El PF fue de mayor digestibilidad proteica ($P<0,05$). Sensorialmente, todos los productos resultaron aceptables. La harina de quinchoncho germinada y fermentada puede ser un buen sustituto parcial de la carne.

Palabras clave: quinchoncho, germinación, fermentación, paté, evaluación sensorial.

Abstract

This study evaluated the incorporation of germinated pigeon pea flour (GP) and fermented with *Lactobacillus plantarum* (FP) on the improvement of the nutritional and functional properties of a low fat pate, compared with a control (CP) and with a meat standard (SP). Products were analyzed to determine their proximate composition, phytic acid, phenols, protein digestibility and sensory

analysis. The results do not show significant differences for the proximal analysis between GP, FP and the control. The phytic acid decreased in GP and FP products. The total phenols increased in the GP ($P<0.05$). The FP was of higher protein digestibility ($P<0.05$). All products were acceptable. To conclude, the germinated and fermented pigeon pea flour can be a good alternative as a partial substitute for meat in the preparation of meat products.

Key words: pigeon pea, germination, fermentation, pate, sensory evaluation.

Introducción

Las semillas de quinchoncho (*Cajanus cajan* L. Millsp.), ofrecen una alternativa de bajo costo, de un alto valor nutricional, especialmente en proteínas, fibra soluble y almidones resistentes; además presenta un alto contenido de fenoles, considerados como importantes compuestos antioxidantes en la dieta (Akande *et al.*, 2010).

Por otro lado, pese a que se ha descrito la existencia de los efectos positivos del ácido fitico a bajas concentraciones, las leguminosas contienen este componente antinutricional en concentraciones importantes, por lo que ha sido de interés primordial para la nutrición humana y la salud, debido a que limitan el valor nutricional de los alimentos, al quedar minerales, carbohidratos, lípidos y proteínas (Kumar *et al.*, 2010, Mohamed *et al.*, 2011); por lo que en la actualidad se aplican nuevas tecnologías para disminuirlos. La germinación y la fermentación son métodos alternativos que mejoran considerablemente el valor nutritivo y funcional de las leguminosas al disminuir el ácido fitico e incrementar su efecto antioxidante por aumento de los fenoles (Onweluzo y Nwabugwu, 2009; Fernández *et al.*, 2007).

Introduction

Pigeon pea seeds (*Cajanus cajan* L. Millsp.) offer a low-cost alternative, with a high nutritional value, especially in proteins, soluble fiber and resistant starches; also, it presents a high phenol content, considered as important antioxidants in the daily diet (Akande *et al.*, 2010).

On the other side, even though the positive effects of phytic acids at low concentrations have been described, the legumes have this anti-nutritional component at important concentrations, thus, it is considered very important for the human nutrition and the health since it limits the nutritional value of food binding minerals, carbohydrates, lipids and proteins (Kumar *et al.*, 2010, Mohamed *et al.*, 2011); therefore, new technologies are currently applied to reduce this component. The germination and fermentation are alternative methods that improve considerable the nutritive and functional value of the legumes when reducing the phytic acid and increasing its antioxidant effect by the increment of the phenols (Onweluzo and Nwabugwu, 2009; Fernández *et al.*, 2007).

On the other side, the information about the use of pigeon pea

Por otro lado, es escasa la información sobre el uso de harinas de quincho como extensor proteico sometidas a germinación y fermentación con *L. plantarum*, para el desarrollo de productos cárnicos funcionales y accesibles al consumidor, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la incorporación de harinas de quincho sometidas a germinación y fermentación controlada con *L. plantarum*, sobre las propiedades nutricionales, funcionales, sensoriales y la digestibilidad proteica de un producto cárneo tipo paté bajo en grasa.

Materiales y métodos

Diseño de la investigación

El diseño experimental fue completamente al azar con 3 tratamientos más un testigo y 7 repeticiones. Los tratamientos consistieron en tres tipos de patés: control (PC), elaborado con carne, grasa y harina control; germinado (PG) con carne, grasa, harina germinada; y fermentado (PF), con carne, grasa y harina fermentada con *L. plantarum*. A los componentes básicos de cada tipo de paté se le agregaron en la misma proporción otros ingredientes (agua, sales, fécula de papa, condimentos). El testigo fue elaborado con carne, grasa y los otros ingredientes.

Obtención y elaboración de las harinas de quincho

Las semillas de quincho (*Cajanus cajan* L. Millsp) utilizadas fueron de la variedad Táchira 401 y adquiridas en la Facultad de Agronomía, de la Universidad del Zulia.

flour as a protean supplement submitted to germination and fermentation with *L. plantarum* is limited for the development of functional meat products and with easy access for the consumer, thus, the objective of this research was to evaluate the incorporation effect of pigeon pea flour submitted to germination and fermentation controlled with *L. plantarum* on the nutritional, functional, sensorial properties, and the protean digestibility of a pate-type low-fat meat product.

Materials and methods

Design of the research

A split-plot design with three treatments, a witness and 7 replications was used. The treatments consisted on three types of pate: control (CP) made with meat, fat and control flour; germinated pate (GP) made with meat, fat, germinated flour; and fermented pate (FP) elaborated with meat, fat and flour fermented with *L. plantarum*. Other ingredients were added to the basic components of each type of pate at the same proportion (water, salts, potato starch, and seasonings). The witness was elaborated with meat, fat and other ingredients.

Obtaining and elaboration of pigeon pea flours

The pigeon pea seeds used (*Cajanus cajan* L. Millsp) were of the Táchira 401 variety and acquired at the Agronomy Faculty, Universidad del Zulia.

Harina Control:

Los granos previamente sanitizados, se secaron en estufa a 65 °C durante 48 h., para luego ser molidos hasta 0,5 mm en un procesador de alimentos (marca Osterizer, modelo 450-21-V 115-V-Cromo).

Harina germinada:

Antes del secado y molido, las semillas fueron remojadas y germinadas durante 4 días, de acuerdo al procedimiento descrito por Sangronis y Machado (2007).

Harina fermentada:

La fermentación se realizó en fase líquida (Fernández *et al.*, 2007), inoculando 17 mL de una suspensión con *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014) obtenida de Microbiologics® (217 Osseo Ave. North ST. Cloud, MN 56303 USA), sobre una mezcla de agua estéril con harina de quinchoncho “control”, e incubada a 37°C durante 24 h., para luego ser utilizada en la formulación del producto cárnico fermentado.

Formulación de los productos cárnicos bajos en grasa tipo paté

La carne de res (30%) se mezcló con las sales (4%) durante 2 min en un procesador de alimentos (Cutter, Marca Oster, Modelo 3200). La grasa de cerdo (10%), las harinas de quinchoncho germinada o fermentada (20%), el agua (30%) y los otros ingredientes (pimienta blanca, ajo en polvo, cebolla en polvo (McCormick), cebolla y ajo frescos) (0,96%) y fécula de papa (6%), se adicionaron posteriormente hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla se envasó y se cocinó en baño maría hasta una temperatura interna de 76°C. La mezcla con harina fermentada fue sometida a reposo

Control flour:

The previously sanitized grains were let dried on a stove at 65°C for 48h., later were ground until 0.5 mm in a food processor (Osterizer brand, model 450-21-V 115-V-Chrome).

Germinated flour:

The seeds were soaked and germinated for 4 days before the drying and grinding process, and according to the procedure described by Sangronis and Manchado (2007).

Fermented flour:

Fermentation was performed during the liquid phase (Fernández *et al.*, 2007), inoculating 17 mL of a suspension with *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014) obtained from Microbiologics® (217 Osseo Av. North ST. Cloud, MN 56303 USA), on a mix of sterile water with the control pigeon pea flour, and incubated at 37°C for 24 h., later it was used in the elaboration of the meat fermented product.

Elaboration of low-fat pate-type meat products

Beef meat (30%) was mixed with salts (4%) for 2 min in a food processor (Cutter, Oster brand, Model 3200). The pig fat (10%), the germinated or fermented pigeon pea flours (20%), water (30%) and the other ingredients (white pepper, garlic in powder (McCormick), onion and fresh garlic) (0.96%) and potato starch (6%) were later added until obtaining a homogeneous mix. The mix was stored and cooked in double boiler (Bain-Marie) at an internal temperature of 76°C. The mix with fermented flour was set aside at 4°C for 24 h before cooking it. Subsequently, the products were mixed with fresh garlic (1%) and

a 4°C durante 24 h antes de su cocción. Posterior a esto, los productos se mezclaron con ajo fresco (1%) y cebolla fresca (10%), antes de envasar al vacío y conservar a 4°C.

Propiedades físico-químicas de las muestras

La determinación de humedad, extracto étereo, cenizas, fibra cruda y proteína total se realizó de acuerdo al método de la AOAC (2000). Los carbohidratos se obtuvieron por diferencia y el contenido calórico por el método empírico propuesto por Livesey (1995), el cual consiste en multiplicar los gramos de carbohidratos y de proteínas por 4 Kcal. y los gramos de grasa por 9 Kcal.

Determinación de ácido fítico y fenoles totales

La determinación de ácido fítico se realizó mediante el método colorimétrico de la solución cromogénica modificada por Mohamed *et al.* (1986).

La extracción de fenoles totales se realizó por una técnica modificada descrita por Adam *et al.* (2009) donde la muestra seca desgrasada se sometió a tres etapas de extracción con diferentes solventes: metanol al 80% v/v; acetona al 70% v/v y acetato de etilo, respectivamente, para obtener un extracto. La determinación de los fenoles totales, se realizó utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Posteriormente se leyó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro UV-visible (UNICO 1100 RS).

Determinación de la digestibilidad proteica

La digestibilidad *in vitro* de proteínas en los diferentes productos fue determinado mediante pepsina con

fresh onion (10%) before vacuum packing and preserving at 4°C.

Physical-chemical properties of the samples

The determination of humidity, ethereal extract, ashes, crude fiber and total protein was done according to the method of AOAC (2000). The carbohydrates were obtained by difference and the caloric content by the empiric method proposed by Livesey (1995), which consists on multiplying the grams of carbohydrates, and proteins by 4 Kcal and the fat grams by 9 Kcal.

Determination of phytic acid and total phenols

The determination of phytic acid was performed using the colorimetric method of the chromogenic solution modified by Mohamed *et al.* (1986).

The extraction of total phenols was carried out using a modified technique described by Adam *et al.* (2009), where the defatted dry sample was submitted to three extracting phases with different solvents: methanol at 80% v/v; acetone at 70% v/v and ethyl acetate, respectively, to obtain an extract. The determination of total phenols was done using the Folin-Ciocalteu reactive. Subsequently, the absorbance was read at 750 nm in a UV-visible spectrophotometer (UNICO 1100 RS).

Determination of the protean digestibility

The *in vitro* digestibility of proteins in the different products was determined by pepsin with modifications of the method described by Mertz *et al.* (1984), where the

modificación del método descrito por Mertz *et al.* (1984), en donde el porcentaje de nitrógeno soluble posterior a la digestión péptica de los productos fue determinado a través del método macro-Kjeldhal. La digestibilidad *in vitro* fue reportada a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Digestibilidad} = ((\text{N muestra-N residuo}) / (\text{N muestra})) * 100$$

Donde, N muestra= nitrógeno inicial del producto; N residuo = nitrógeno en el residuo obtenido de la digestión de pepsina.

Evaluación sensorial

Se evaluó el “nivel de agrado” mediante escala hedónica de 9 puntos, del color, aroma, consistencia, sabor y aceptabilidad general del producto utilizando un panel de 50 consumidores semi-entrenados.

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), usando el procedimiento Proc Mixed del paquete estadístico SAS (versión 9.0. 2001). Se evaluó los efectos del tratamiento y sus interacciones. Cuando los efectos principales resultaron significativos ($P<0.05$) se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

Resultados y discusión

El cuadro 1 muestra el análisis proximal, y el contenido calórico, de ácido fitico y fenoles totales de los tratamientos. Los valores de proteína, grasa y carbohidratos fueron similares para los 3 tratamientos (PG, PF y PC). La adición de harina de quinchoncho incrementó significativamente los niveles de fibra y cenizas al compararlo con el testigo

percentage of soluble nitrogen posterior to the peptic digestion of the products was determined using the macro-Kjeldhal method. The *in vitro* digestibility was reported using the following equation:

$$\% \text{ Digestibility} = ((\text{N sample-N residual}) / (\text{N sample})) * 100$$

Where, N sample= initial nitrogen of the product; N residual= nitrogen in the residual obtained from the digestion of pepsin.

Tasting analysis

The “like” level was evaluated using the nine-point hedonic scale of color, aroma, consistency, taste and general acceptance of the product using a panel of 50 semi-trained consumers.

Statistical analysis

A variance analysis (ANOVA) was applied using the Proc Mixed procedure of the statistic software SAS (version 9.9 2001). The treatment effects as long as the interactions were evaluated. The Tukey test for comparing the means was used when the main effects resulted to be significant ($P<0.05$).

Results and discussion

Table 1 shows the proximal analysis, and the caloric contents as well as the content of phytic acid and total phenols of the treatments. The protein, fat and carbohydrates values were similar for the 3 treatments (PG, PF and PC). The addition of pigeon pea flour significantly increased the levels of fiber and ashes when compared to the witness ($P<0.05$). The germination and fermentation processes reduced 53% and 57% the contents of phytic acid when compared to the control

Cuadro 1. Medias aritméticas ± DE para el análisis proximal, ácido fítico y fenoles totales en patés elaborados con harina de quinchoncho germinada y fermentada.**Table 1. Arithmetic measures ± DE for the proximal analysis, phytic acid, total phenols in pates elaborated with germinated and fermented pigeon pea flour.**

Componente (%)	Control	Producto germinado (PG)	Producto fermentado (PF)	Testigo
Calorías	197,0±15,1 ^a	194,0±16,1 ^a	190,8±14,1 ^a	161,1±15,1 ^b
Proteína	10,65±1,1 ^a	10,82±1,0 ^a	11,02±0,9 ^a	9,98±1,1 ^b
Grasa	7,01±0,4 ^a	7,31±0,4 ^a	6,87±0,3 ^{ab}	6,23±0,3 ^b
Fibra	1,83±0,2 ^a	1,18±0,1 ^b	1,16±0,2 ^b	0,02±0,01 ^c
Carbohidratos	22,68±2,5 ^a	21,32±2,4 ^a	21,15±2,3 ^a	16,28±2,0 ^b
Cenizas	1,44±0,1 ^a	1,74±0,2 ^a	1,74±0,1 ^a	0,08±0,01 ^b
Fítico*	388,45±21 ^a	183,22±18 ^b	170,86±18 ^c	NP
Fenoles totales*	602,07±31 ^a	913,91±42 ^b	691,83±34 ^a	NP

*(mg. 100 g⁻¹ de base seca)a,b,c: Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa NP: No presenta.

(P<0,05). Los procesos de germinación y fermentación lograron disminuir en un 53% y 57% los contenidos de ácido fítico al comparar con el producto control (P<0,05). Otros investigadores han encontrado una disminución del ácido fítico en diferentes leguminosas germinadas y fermentadas (Azeke *et al.*, 2011, Mohamed *et al.*, 2011).

En cuanto al contenido de fenoles, la germinación incrementó significativamente los niveles de fenoles (P<0,05) mientras que en los productos fermentados el incremento fue no significativo en relación al control (P>0,05). En este sentido, Lin y Lai, (2006) encontraron que al aumentar el periodo de germinación los fenoles totales incrementan de manera significativa. Fernández *et al.*, (2007) y Dueñas *et al.*, (2005) han reportado que

product (P<0.05). Other researchers have found a reduction of phytic acid in different germinated and fermented legumes (Azeke *et al.*, 2011, Mohamed *et al.*, 2011). Regarding the phenols content, the germination increased significantly the phenol levels (P<0.05) while in the fermented products the increment was not significant in relation to the control (P>0.05). On this sense, Lin and Lai (2006) found that when increasing the germination period, the total phenols increase significantly. Fernández *et al.*, (2007) and Dueñas *et al.*, (2005) have reported that the germination of legumes (*Vigna unguiculata* L. Walp.) favor the synthesis of new phenolic compounds with antioxidant capacity.

Protean digestibility

Figure 1 shows the protean

la fermentación de leguminosas (*Vigna unguiculata* L Walp.) favorece la síntesis de nuevos compuestos fenólicos con capacidad antioxidante.

Digestibilidad proteica

La figura 1 muestra la digestibilidad proteica de los productos. La adición de harina de quinchoncho germinada y fermentada mejoró significativamente la digestibilidad de los productos tipo paté ($P<0,05$). La disminución del pH durante la fermentación permitió un incremento en la digestibilidad, similar al testigo. Dávila *et al.*, (2003), reportaron un aumento en la digestibilidad proteica de harinas obtenidas por germinación y fermentación de la semilla de *Vigna unguiculata*.

Evaluación sensorial

En el cuadro 2 se indica el puntaje obtenido para la degustación

digestibility of the products. The addition of germinated and fermented pigeon pea flour improved significantly the digestibility of the pate-type products ($P<0.05$). The pH reduction during the fermentation allowed an increment in the digestibility similar to the witness. Dávila *et al.*, (2003) reported an increment in the protein digestibility of flours obtained by the germination and fermentation of the *Vigna unguiculata* seed.

Tasting analysis

Table 2 indicates the score obtained during the degustation of different products. The pates elaborated with germinated and fermented flours obtained a score for taste, color and texture similar to the witness ($P<0.05$) and close to the scale of 9 (I really like it).

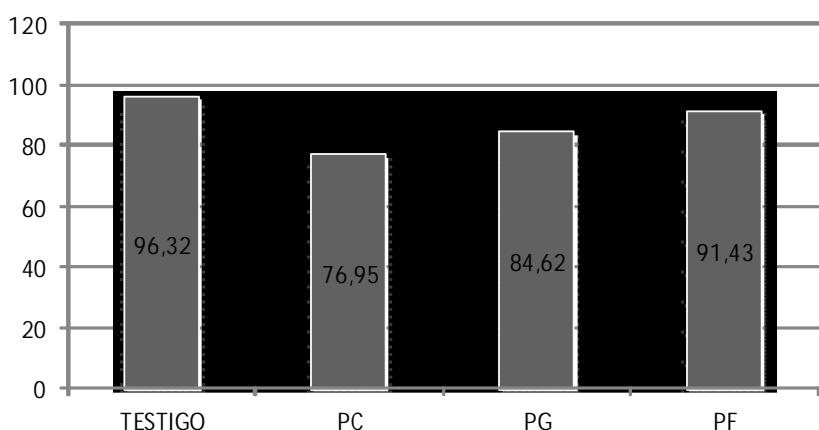


Figura 1. Digestibilidad proteica de patés testigo, control (PC), germinado (PG) y fermentado (PF) elaborados con harina de quinchoncho.

Figure 1. Protean digestibilities of witness, control (CP), germinated (GP) and fermented (FP) pates elaborated with pigeon pea flour.

Cuadro 2. Medias aritméticas ± desviaciones estándares (DE) para el Análisis Sensorial en patés elaborados con harina de quinchoncho germinada y fermentada.

Table 2. Arithmetic measures ± standards deviations (SD) for the tasting analysis in pates elaborated with germinated and fermented pigeon pea flour.

Propiedad sensorial	Testigo	Control (PC)	Germinado (PG)	Fermentado (PF)
Sabor	8,21±0,5	5,6±0,7	7,6±0,6	7,8±0,5
Color	8,00±0,8	4,9±0,8	7,5±0,3	7,9±0,2
Textura	8,15±0,6	4,8±0,5	7,9±0,7	7,7±0,8

1=Me disgusta mucho; 9=Me gusta mucho Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa ($P<0,05$).

de los diferentes productos. Los patés elaborados con harinas germinadas y fermentadas, obtuvieron un puntaje para el sabor, color y textura similar al testigo ($P<0,05$) y cercano a la escala de 9 (Me Gusta Mucho).

Conclusiones

La adición de harinas de quinchoncho germinadas durante 4 días y fermentadas con *L. plantarum* como sustituto parcial de una mezcla cárnica para elaborar patés, permitió obtener productos nutritivos, con un nivel adecuado de proteínas y buena digestibilidad, un bajo contenido de grasa, y óptima cantidad de fibra y minerales totales; potenciando además sus propiedades funcionales al disminuir el antinutriente ácido fitico e incrementar los niveles de antioxidantes naturales (fenoles totales). Las características sensoriales de los productos fueron de una adecuada aceptabilidad general.

Conclusions

The addition of pigeon pea flours germinated for 4 days and fermented with *L. plantarum* as a partial substitute of a meat product to elaborate pates, allowed obtaining nutritional products with an adequate level of proteins and good digestibility, a low fat content and an optimum quantity of fiber and total minerals; also increasing its functional properties when reducing the anti-nutrient phytic acid and increasing the natural antioxidant levels (total phenols). The tasting characteristics of the products had an adequate general acceptance.

End of english version

Literatura citada

Adam, A., R. Mohamed, M. Ismail, N. Ismail. 2009. "Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich

- fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake". Food Chemistry, 116, 306-312.
- Akande, K. M. Abubakar, T. Adegbola, S. Bogoro, U. Doma. 2010. Chemical evaluation of the nutritive quality at pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.). International Journal of Poultry Science, 9(1):63-65.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis (17th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Azeke, M., R. Elsanhoty, S. Egielewa, M. Eibogbo. 2010. The effect of germination on the phytase activity, phytate and total phosphorus contents of some Nigerian-grown grain legumes. J. Sci Food Agric, 91:75-79.
- Dueñas, M., D. Fernández, T. Hernández, I. Estrella, R. Muñoz. 2005. Bioactive phenolic compoundsof cowpeas (*Vigna sinensis* L.).Modifications Fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. J Sci Food Agric, 85,297-304.
- Fernández, R., J. Frias, R. Muñoz, H. Zielinski, M. Piskula, H. Kozlowska, C. Vidal. 2007. Fermentation as a Bio-process to obtain functional soybean flours. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55:8972-8979.
- Kumar, V., A. Sinha, H. Makkar, K. Becker, 2010. Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. Food Chemistry, 120, 945-959.
- Lin, P., H. Lai. 2006. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 3807-3814.
- Livesey, G. 1995. Metabolizable energy of macronutrients. Am. J. Clin. Nutr., 62:1135-1142.
- Mertz, E., M. Hassen, C. Cairns, A. Kirleis, L. Tu, J. Axtell. 1984. "Pepsin digestibility of proteins in sorghum and other major cereals". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United Status of American, 81, 1-2.
- Mohamed, R., E. Abou-Arab, A. Gibrel, N. Rasmy, F. Abu-Salem. 2011. "Effect of legume processing treatments individually or in combination on their phytic acid content". African Journal of Food Science and Technology, 2, 2, 036-046.
- Onweluzo, J., C. Nwabugwu. 2009. Fermentation of Millet (*Pennisetum americanum*) and Pigeon pea (*Cajanus cajan*) seeds for production: Effects on composition and selected functional properties. Pakistan Journal of Nutrition, 8(6):737-744.
- Sangronis, E., C. Machado. 2007. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus Cajan*. LWT, 40, 116-120.
- Torres, A., J. Frias, M. Granito, C. Vidal-Valverde. 2007. Germinated *Cajanus cajan* seeds as ingredients in pasta products:Chemical, biological and sensory evaluation. Food Chemistry, 101, 202-211.