



**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA**

---

---

**ANÁLISIS PROXIMAL Y CUANTIFICACIÓN DE  
TIROSINA Y TRIPTÓFANO EN PRODUCTOS PROCESADOS**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**INGENIERA BIOTECNÓLOGA**

**P R E S E N T A**

**PRISCILA BUITIMEA PARRA**

**CD. OBREGÓN, SONORA**

**MAYO 2007**

## DEDICATORIAS

A Dios, por haberme dado esta vida, la fe y esperanza que me hace seguir adelante.

Con todo mi corazón, a mi Familia, por la confianza que en mí han puesto y el apoyo que siempre están dispuestos a darme.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

A los doctores, Dalia Isabel Sánchez Machado y Jaime López Cervantes, por su valioso tiempo dedicado a la realización de este trabajo, por su confianza y la oportunidad de trabajar con ellos.

Enormemente a mis padres, Margarita e Ignacio, por creer en mí, por todas sus enseñanzas y aquellos sacrificios que tuvieron que hacer, para que yo pudiera alcanzar este logro, de nuevo mil gracias.

A mis hermanos, Maria Jesús, Valeria, Ana Luz, Ignacio, Leonel, Magali, Nieves, Cecilia y Noé, por estar siempre conmigo, por sus risas, sus ocurrencias, en fin... por ser como son. Todos y cada uno son parte de mí.

A mis amigas, de ayer, hoy y de siempre. Diana, Belem, Rocío, Luz María, Maribet, Gisela, Luisa, Josefina, Sara, Martita; por ser tan lindas y compartir tantos momentos y experiencias.

Al futuro Ingeniero, Carlos Adrián Díaz Martínez, por ser una gran persona y buen amigo.

A todos mis maestros y compañeros de la carrera, por cada una de las clases compartidas, los tiempos libres y los de trabajo.

A mis compañeros del laboratorio, Caro, Rubén, Pepe, Patty, Daniel, Irasema, Willy, Lupita, maestra Olga, Tere y Berenice, por su ayuda y compañía brinda.

---

---

---

## ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIAS.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
LISTA DE TABLAS.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	
OBJETIVO.....	3
JUSTIFICACIÓN.....	4
HIPÓTESIS.....	6
<b>II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA</b>	
2.1 El maíz ( <i>Zea mays</i> ).....	7
2.1.1 Estructura morfológica.....	8
2.1.2 Composición nutricional.....	10
2.1.3 Nixtamalización.....	14
2.1.3.1 Proceso.....	14
2.1.3.2 Pérdidas y disponibilidad de nutrientes.....	16
2.1.3.3 Productos derivados del nixtamal.....	24
2.2 Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ).....	25
2.2.1 Estructura morfológica.....	26
2.2.2 Composición nutricional.....	28
2.2.3 Procesamiento.....	29
2.2.3.1 Técnicas de cocción.....	29
2.2.3.2 Enlatado.....	30
2.2.3.3 Cambios bioquímicos por el cocimiento.....	31
2.3 Análisis proximal de alimentos.....	32
2.3.1 Determinación de humedad.....	32
2.3.2 Determinación de cenizas.....	32
2.3.3 Nitrógeno total y proteína bruta.....	32
2.4 Cuantificación de tirosina y triptófano por cromatografía de líquidos.....	33

---

---

---

2.4.1 Fundamentación del método.....	33
2.4.2 Preparación de la muestra.....	34
2.4.3 Condiciones cromatográficas.....	35
<b>III. METODOLOGÍA</b>	
3.1 Ubicación del experimento.....	37
3.2 Infraestructura disponible.....	37
3.3 Preparación de las muestras .....	38
3.4 Análisis proximal.....	39
3.4.1 Análisis de humedad.....	39
3.4.2 Determinación de cenizas.....	39
3.4.3 Análisis de proteínas.....	39
3.5 Cuantificación de tirosina y triptófano.....	39
3.5.1 Estándares y reactivos.....	39
3.5.2 Equipo y condiciones HPLC.....	40
3.5.3 Análisis de los datos.....	41
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
4.1 Contenido de humedad.....	42
4.2 Contenido de cenizas.....	44
4.3 Contenido de proteína.....	46
4.4 Cuantificación de tirosina y triptófano en muestras.....	48
4.4.1 Preparación de la muestra.....	48
4.4.2 Tiempo de retención.....	49
4.4.3 Linealidad.....	52
4.4.4 Análisis de la muestra.....	54
<b>V. CONCLUSIÓN</b>	
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>59</b>

---

---

---

**LISTA DE TABLAS**

<b>Tabla</b>	<b>Título</b>	<b>Pág</b>
1	Clasificación taxonómica del maíz.....	8
2	Composición nutricional de los granos de maíz, trigo y arroz.....	12
3	Peso y composición de las distintas partes del grano de maíz.....	12
4	Contenido de aminoácidos esenciales en germen y endospermo del maíz.....	13
5	Composición aproximada del maíz en bruto y de las tortillas de fabricación casera e industrial.....	18
6	Variaciones de los aminoácidos durante la cocción alcalina del maíz.....	21
7	Contenido de vitaminas del maíz en bruto y las tortillas (mg/100 g)..	23
8	Clasificación taxonómica del frijol.....	26
9	Composición promedio de una semilla de frijol.....	29
10	Tratamientos de preparación de la muestra.....	35
11	Condiciones cromatográficas utilizadas para la determinación de tirosina y triptófano.....	36
12	Condiciones cromatográficas óptimas para el análisis.....	40
13	Contenido de humedad.....	43
14	Contenido de cenizas calculado en base seca.....	45
15	Contenido de proteína calculada en base seca.....	47
16	Tiempo de retención de tirosina y triptófano.....	49
17	Recta patrón para tirosina.....	52
18	Recta patrón para triptófano.....	53
19	Datos de calibración del método para los patrones de tirosina y triptófano.....	54
20	Contenido de tirosina y triptófano libres en las muestras analizadas.....	55

---

---

---

---

**LISTA DE FIGURAS**

<b>FIGURA</b>	<b>Título</b>	<b>Pág.</b>
1	Grano de maíz y sus estructuras.....	9
2	Diagrama de flujo del proceso de nixtamalización y elaboración de tortillas de maíz.....	15
3	Semillas de cultivares pertenecientes a los tipos pinto, arroz, negro y coscorrón.....	27
4	Semilla de frijol y sus estructuras.....	28
5	Representación grafica del contenido de humedad.....	44
6	Representación gráfica del contenido de cenizas.....	46
7	Representación gráfica del contenido de proteína en base seca.....	48
8	Cromatograma del patrón tirosina y triptófano.....	50
9	Cromatograma de tirosina y triptófano en muestra de frijol enlatado.....	50
10	Cromatograma de tirosina y triptófano en muestra de nixtamal.....	51
11	Cromatograma de tirosina y triptófano en tortilla.....	51
12	Recta patrón de tirosina.....	52
13	Recta patrón de triptófano.....	53
14	Gráfica del contenido de tirosina en las diferentes muestras.....	56
15	Gráfica del contenido de tirosina en las diferentes muestras.....	57

---

---

## RESUMEN

Esta investigación se realizó en el Instituto Tecnológico de Sonora, unidad Nainari, en el área de laboratorios 700. El objetivo principal de este estudio fue cuantificar tirosina y triptófano libres por cromatografía de líquidos de alta resolución en muestras de frijol enlatado, maíz nixtamalizado y tortillas de maíz, esto fue complementado al determinar su contenido de proteínas y cenizas. La preparación de los aminoácidos se realizó en una columna C18 y utilizando detección por fluorescencia. Los resultados obtenidos del análisis fueron en promedio de 6.94, 1.36 y 1.52% de cenizas, en frijol, nixtamal y tortilla respectivamente, mientras que para proteína un promedio 20.27% en frijol, 9.04 en nixtamal y 9.14 % en tortilla. En cuanto al contenido de tirosina fue 44.02, 15.73 y 30.62  $\mu\text{g/g}$  m. s., y de triptófano 71.19, 6.60 y 11.02  $\mu\text{g/g}$  m. s., en frijol, nixtamal y tortilla respectivamente. Esta investigación muestra el potencial nutricional de los alimentos seleccionados de la dieta del mexicano.

---

## I INTRODUCCIÓN

Junto con el maíz (*Zea mays* L.), el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es uno de los alimentos más importantes en México. El grano en ambas especies aporta casi la totalidad de las proteínas vegetales que consume la mayoría de la población del país, por lo cual ocupan un lugar de suma importancia en la dieta básica de los mexicanos (Allende-Arrarás y cols, 2006).

El maíz representa en muchos países, el principal alimento para gran parte de la población, sobre todo la de escasos recursos económicos; se consume en formas muy variadas, tales como tortillas, tamales, pinole, etc. Al igual que otros cereales éste es rico en carbohidratos, pero deficiente en proteínas, tanto en cantidad como en calidad (Badui, 1993).

---

El maíz transformado principalmente en tortilla es un alimento que proporciona cantidades significativas de calorías, proteínas y otros nutrientes a la dieta de grandes sectores (Bressani y cols, 2001).

En términos de porcentaje en peso del alimento la tortilla aporta el 65% y el frijol aporta el 15% de la dieta rural. Esto aunque muy crítico, es algo afortunado debido a la combinación de frijol con el maíz que permite la sobrevivencia en esas comunidades (Figuroa y cols, 2001).

El frijol además de ser la principal fuente de proteína en la dieta, contiene un porcentaje de carbohidratos glicémicos de digestión lenta y carbohidratos no glicémicos fermentables en el intestino grueso. Estos últimos pueden ejercer efectos fisiológicos beneficiosos relacionados con el control de la respuesta glicémica, de los niveles de colesterol sanguíneo, y la disminución de los factores de riesgo de cáncer colónico, debido a la formación de productos de fermentación colónica (propiónico y butírico), (Serrano y Goñi, 2004).

La caracterización proximal de los alimentos permite conocer su composición de proteínas, carbohidratos, lípidos y humedad. Esto puede ser de ayuda en programas de nutrición y fortificación de alimentos con micronutrientes o macronutrientes (Bressani y cols, 2001).

## OBJETIVO GENERAL

Evaluar el contenido de tirosina y triptófano libres, proteínas y cenizas en frijol refrito enlatado, maíz nixtamalizado y tortillas de maíz como parte de un estudio nutricional de alimentos típicos de la dieta de los mexicanos.

### Objetivos específicos:

- Determinar el contenido de tirosina y triptófano libres por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia.
- Evaluar el contenido de proteínas, y cenizas aplicando técnicas tales como el método Kjeldahl y la calcinación.

## **JUSTIFICACIÓN**

En México y en toda Centroamérica, los productos derivados del frijol y del maíz tales como la tortilla son la base de la alimentación popular, principalmente en las familias de escasos recursos, y más aún cuando el país presenta una crisis económica.

El maíz como todos los cereales, es deficiente en los aminoácidos esenciales como lisina y triptófano, además este último puede ocasionar una enfermedad llamada pelagra si no se consume en cantidades necesarias. Ya que el contenido de proteína se presenta en menor cantidad en el grano, siendo pues, los carbohidratos los que comprende la mayor parte del grano, así mismo el contenido de cenizas o minerales se presentan en muy bajas proporciones.

Las leguminosas constituyen una importante fuente de proteína y energía, que se obtienen a través de la ingestión del alimento cocido, para lo cual pasa por un tratamiento térmico el que a su vez sirve para hacer disponible los nutrimentos, pero

a la vez suelen ser críticos ya que en ocasiones logran disminuir el valor biológico de las proteínas, por ejemplo, en una exposición al calor en tiempos prolongados puede afectar la biodisponibilidad de lisina, arginina, metionina y cisteína en frijol.

En México el 2% de la producción nacional y un volumen no determinado de frijol importado se transforman en diversos productos debido a un creciente mercado de alimentos preparados de utilización rápida. El frijol cocido como otras leguminosas es fuente de proteínas y energía; sin embargo, una exposición prolongada al calor puede afectar la biodisponibilidad de ciertos aminoácidos.

Por lo tanto, es necesario realizar un estudio detallado sobre la composición proximal y contenido de aminoácidos esenciales libres tales como tirosina y triptófano en los productos que forman parte de la dieta del mexicano.

Los resultados obtenidos en esta investigación podrán ser útiles para la elaboración de alimentos con mejor calidad nutricional.

## **HIPÓTESIS**

El frijol refrito, maíz nixtamalizado y tortillas de maíz difieren en su contenido de tirosina y triptófano libres, proteínas y cenizas.

## II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 2.1 El maíz (*Zea mays*)

El maíz, *Zea mays* L., es uno de los granos alimenticios más antiguos que se conocen. Pertenece a la familia de las gramíneas, tribu maydeas, y es la única especie cultivada de este género (ONUAA, 2001). La clasificación taxonómica del maíz se presenta en la tabla 1.

La palabra maíz proviene de una lengua del caribe. El maíz o milpa, guarda muchos y grandes secretos; sus frutos o granos significan: moneda, religión, alimento (pan y vino), para grandes y dispersos conglomerados humanos, y constituye uno de los recursos naturales renovables más rentables en toda la historia de la humanidad (Reyes, 1990).

El maíz es el tercer cereal más cultivado en el mundo y es fuente de energía, proteínas y otros nutrientes para el hombre y también para el ganado. Contiene del 7-13% de proteína. Como todos los granos de cereales, el maíz contiene tres grupos

de proteínas: las proteínas almacenadas, que constituyen los aminoácidos de reserva depositados en el primer desarrollo de la semilla; las enzimas involucradas en el metabolismo; y las proteínas estructurales, estas son: ribosomal, cromosomal y las proteínas de la membrana (Zarkadas y cols, 2000).

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica del maíz

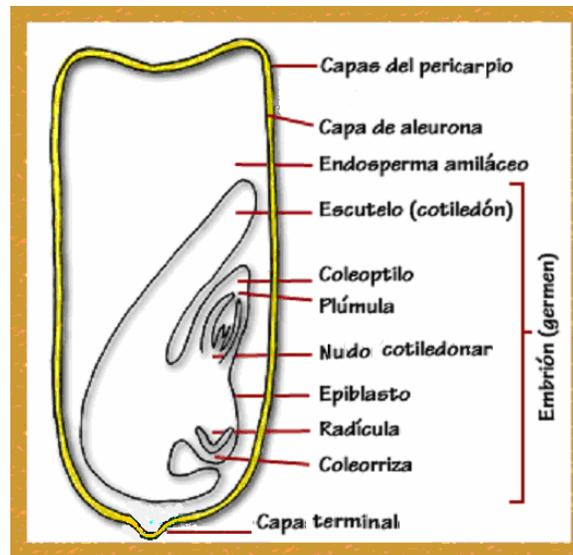
<i>Categoría</i>	<i>Ejemplo</i>
Reino	Vegetal
División	trachephyta
Subdivisión	pterapsidae
Clase	angiospermae
Subclase	monocotiledónea
Grupo	glumiflora
Orden	graminales
Familia	gramíneae
Tribu	maydeae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>mays</i>

Fuente: Robles, 1981

Todas las partes de la planta tienen una forma de uso: el grano para tortillas, tostadas, atole, tamales, ponteduro, totopos, pinole, pozol; el tallo para jugo; los tallos secos para cercas o combustible; los olotes y raíces como combustible; hongos de la mazorca tierna como alimento; las hojas verdes o del totemoxtle para envolver tamales (INIFAP, 1995).

### 2.1.1 Estructura morfológica

La semilla de maíz, está constituida por las siguientes estructuras: pericarpio, capa de la célula aleurona, endosperma, capa de las células epiteliales, escutelo, coleóptilo, plúmula, nudo cotiledonar, radícula, coleoriza y capa terminal, como se muestra en la figura 1.



Fuente: [http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)

**Figura 1.** Grano de maíz y sus estructuras

Es necesario conocer la función y posición de cada estructura de la semilla, las cuales se definen de la siguiente manera:

El pericarpio. Es la pared del ovario desarrollado y maduro, siendo un conjunto de capas que forman la cubierta del fruto envolviendo la semilla. En el maíz, el pericarpio se presenta como una delgada película y por lo mismo, no se puede diferenciar en epicarpio, mesocarpio y endocarpio, constituyendo así una sola estructura.

Aleurona. Sustancia proteica en forma de pequeños granos, que se encuentran en la capa externa del endosperma. Actúa como material de reserva, siendo consumida durante la germinación.

Endosperma. Tejido de reserva de la semilla que alimenta al embrión durante la germinación. Es la parte de mayor volumen. Dos regiones bien diferenciadas hay en el endospermo suave o harinoso y el duro o endospermo vítreo. La proporción depende de la variedad.

Epitelio. Tejido que cubre la superficie externa del embrión formando una delgada membrana protectora.

Escutelo. En los frutos de las monocotiledóneas (como el cariósido del maíz), una estructura discoidea gruesa entre el embrión y el endosperma que representa el cotiledón único, el que actúa como un órgano de succión a favor de la nutrición del embrión durante la germinación.

Coleóptilo. Cubierta que rodea a la yema plúmular. La primera hoja por encima del cotiledón en las gramíneas y que rodea al extremo del talluelo y a las hojas incipientes. Sirve como protección de la plúmula durante la germinación.

Plúmula. Es la yema del embrión en una semilla, que dará origen a la parte aérea de la planta.

Nudo cotiledonar. Se encuentra entre la plúmula y la radícula, conocido también como corona.

Radícula. El extremo del hipocótilo, del cual se desarrolla la raíz primaria.

Coleorriza. Funda que rodea la raíz primaria del embrión en las gramíneas.

Capa terminal o piloriza. Parte que se une al olote, con una estructura esponjosa adaptada para la rápida absorción de humedad. Entre esta capa y la base del germen se encuentra un tejido negro conocido como capa hilar, la cual funciona como un mecanismo sellante durante la maduración del grano (la formación negra indica grano maduro) (Reyes, 1990; Robles, 1981).

### **2.1.2 Composición nutricional**

La composición nutricional del maíz, el trigo y el arroz se muestra en la tabla 2 y la composición de los constituyentes del grano de maíz en la tabla 3. La calidad

---

nutricional del maíz es superior a muchos otros cereales excepto en su contenido de proteínas (ONUAA, 2001). Propiamente, el endospermo contiene aproximadamente el 90% del total de proteína, del cual un 60-70% es zeína. Todas las prolaminas se caracterizan por contener grandes cantidades de glutamina, leucina y prolina, pero son casi desprovistas de lisina y triptófano (Zakadas y cols, 2000). El contenido de aminoácidos esenciales refleja el contenido de aminoácidos de las proteínas del endospermo, pese a que la configuración de éstos en el caso del germen es más elevada y mejor equilibrada. No obstante, las proteínas del germen proporcionan una cantidad relativamente alta de determinados aminoácidos, aunque no suficiente para elevar la calidad de las proteínas de todo el grano. Los aminoácidos esenciales se expresan en forma de porcentaje de mg por peso y de mg por g de N. Ver tabla 4. La deficiencia de lisina, triptófano e isoleucina ha sido perfectamente demostrada mediante numerosos estudios con animales y un número reducido de estudios con seres humanos (ONUAA, 1993).

El aceite de maíz tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados: ácido palmítico y esteárico, con valores medios del 11% y el 2%, respectivamente. En cambio, contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de cerca del 24%. Sólo se han encontrado cantidades reducidas de ácidos linolénico y araquidónico. Además, el aceite de maíz es relativamente estable, por contener únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0.7%) y niveles elevados de antioxidantes naturales. El aceite de maíz goza de gran reputación a causa de la distribución de sus ácidos grasos, fundamentalmente ácidos oleico y linoleico. A ese respecto, quienes consumen maíz desgerminado obtienen menos aceite y ácidos grasos que quienes consumen el grano entero. (ONUAA, 1993).

**Tabla 2.** Composición nutricional de los granos de maíz, trigo y arroz

Contenido	Maíz, harina molida	Trigo, harina	Arroz, grano pulido
	(por 100 g)		
Agua %	12.00	12.00	13.00
Calorías	36.2	359	360
Proteínas g	9.00	12.00	6.80
Grasas g	3.40	1.30	0.70
Carbohidratos g	74.50	74.10	78.90
Almidón, fibra g	1.00	0.50	0.20
Cenizas g	1.10	0.65	0.60
Calcio mg	6.00	24.00	6.00
Hierro mg	1.80	1.30	0.80
Fósforo mg	178	191	140
Tiamina mg	0.30	0.26	0.12
Riboflavina mg	0.08	0.07	0.03
Niacina mg	1.90	2.00	1.50

Fuente: ONUAA, 2001

**Tabla 3.** Peso y composición de las distintas partes del grano de maíz

Composición (%)	Endospermo	Embrión	Pericarpio	Escutelo
Almidón	87.6	8.3	7.3	5.3
Grasas	0.8	33.2	1.0	3.8
Proteínas	8.0	18.4	3.7	9.1
Cenizas	0.3	10.5	0.8	1.6
Azúcares	0.6	10.8	0.3	1.6
Resto	2.7	18.8	86.9	78.6
% materia seca	83.0	11.0	5.2	0.8

Fuente: ONUAA, 2001

**Tabla 4.** Contenido de aminoácidos esenciales en germen y endospermo del maíz

Aminoácido	Endospermo <sup>a</sup>		Germen <sup>b</sup>	
	mg %	mg/g N	mg %	mg/g N
Triptófano	48	38	144	62
Treonina	315	249	622	268
Isoleucina	365	289	578	249
Leucina	1 024	810	1 030	444
Lisina	228	180	791	341
Total azufrados	249	197	362	156
Fenilalanina	359	284	483	208
Tirosina	483	382	343	148
Valina	403	319	789	340

<sup>a</sup>1,26 por ciento de N<sup>b</sup>2,32 por ciento de N

Fuente: ONUAA, 1993

El maíz amarillo es una fuente de vitamina A relativamente buena, ya que una taza aporta el 10% de la U. S. RDA (Recomendación Diaria Aprobada). Además contiene cantidades moderadas de vitamina E, B, y C (Dickerson, 2003).

El calcio es un elemento esencial en la nutrición humana. En el maíz el Ca es retenido de acuerdo al siguiente orden: pericarpio > germen > endospermo. En el germen el Ca se encuentra en forma de sales o ácidos grasos y representa un 5% en peso del grano en el pericarpio (González y cols, 2004).

Dickerson (2003), cita que se ha encontrado que los maíces que son azules contienen mayor cantidad de zinc que cualquier variedad de maíz amarilla o blanca utilizada para elaborar tortillas, además que siete de ocho maíces azules contienen más hierro, mientras que todos son generalmente elevados en boro y aluminio, mientras que algunas variedades de maíz azul tienden a contener más fósforo y potasio.

Los productos de maíz destinados para consumo humano pueden contener niveles bastante bajos de fumonisinas, aunque en ciertas condiciones ambientales, como sequías, en el maíz pueden presentar altos niveles. Las personas que consumen

grandes cantidades de maíz están expuestas a incrementar fracciones de fumonisinas, si en las condiciones en que crecen son favorables para la producción de micotoxinas (Dombrink-Kurtzman y cols, 2000).

### **2.1.3 Nixtamalización**

El tratamiento alcalino está orientado para hacer la proteína del maíz biodisponible, incorporando el calcio al momento de la cocción del grano. A continuación se remueven las capas del pericarpio con un simple lavado (González y cols, 2004).

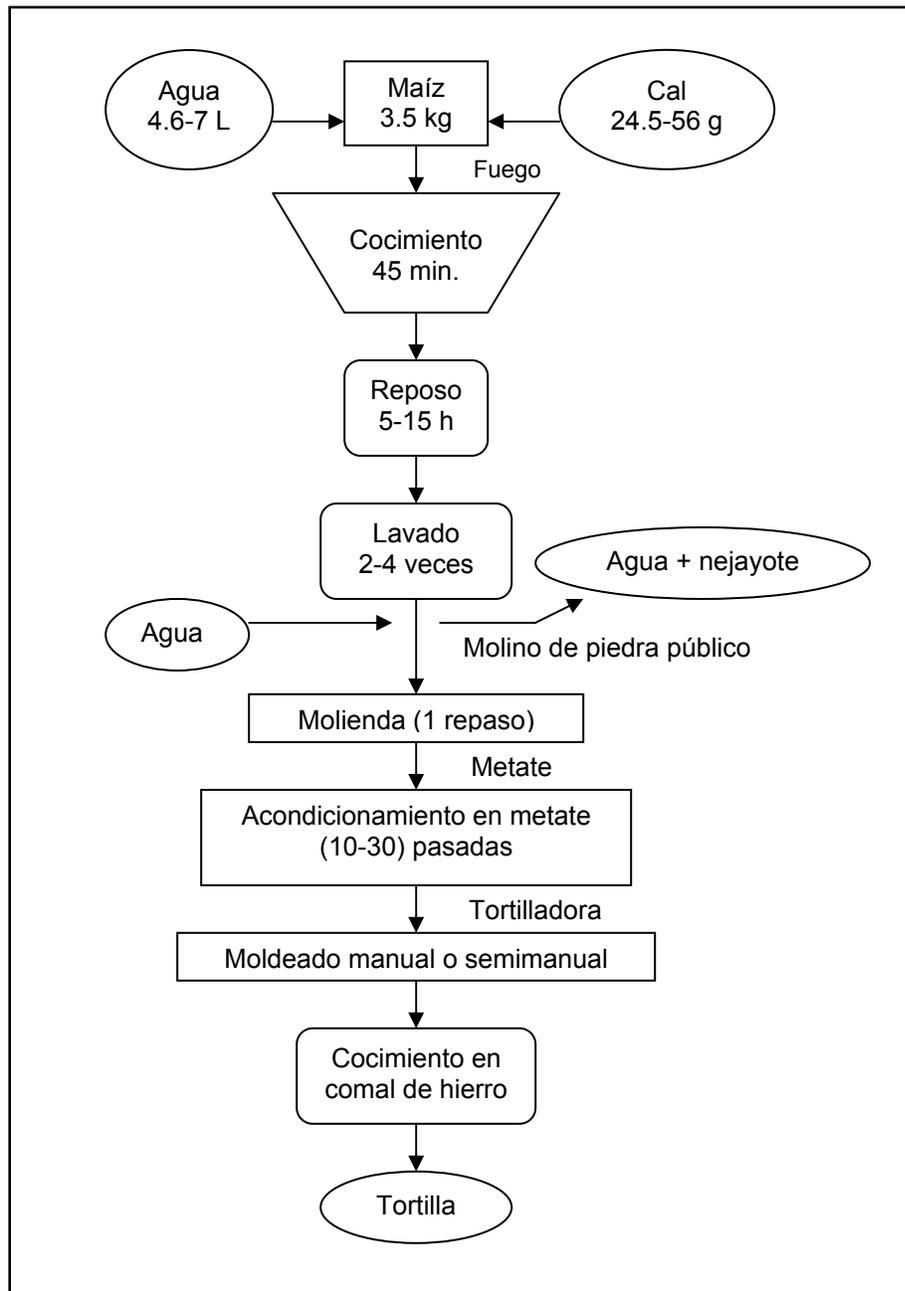
Bressani, y cols., (2004), mencionan que numerosos estudios han sido publicados sobre la pérdida de vitaminas durante el proceso de cocción alcalina, como también el cambio en la concentración de minerales, calcio y biodisponibilidad de niacina.

Además, es conocido que reduce la exposición de aflatoxinas, desoxinivalenol, zearelenon y fumonisinas (De la Campa y cols, 2004).

#### **2.1.3.1 Proceso**

La nixtamalización es un proceso térmico-alcalino muy fuerte (palabra de náhuatl, derivada de *nextli* que significa cenizas o cenizas de cal y *tamalli*, masa de maíz) (Badui, 1993). En la figura 2 se presenta el proceso tradicional de nixtamalización y de elaboración de tortillas.

Primeramente el maíz es hervido en una solución de cal por un periodo de tiempo relativamente breve. Después se pone en remojo durante toda la noche. El agua de cocción (nejayote) se desecha. El maíz escurrido (nixtamal) se lava para remover el pericarpio que rodea la semilla, hasta que no haya exceso de cenizas o cal. Finalmente, el nixtamal se muele para hacer una harina, y de ésta una masa que sirve para preparar un sin número de alimentos, entre los que destaca notablemente la tortilla (Dickerson, 2003).



Rangel y cols, (2004)

**Figura 2.** Diagrama de flujo del proceso de nixtamalización y elaboración de tortillas de maíz

Bressani y cols, en 1985 realizaron un estudio sobre los cambios químicos que se presentan en el maíz durante la preparación de tortilla, donde mencionan que para

preparar tortillas se requiere el maíz y agregar el 1% de solución limosa, se hace una mezcla, y luego es calentado a 80°C por 20 a 45 min, y después se deja reposar durante toda la noche y el día siguiente el licor de cocción es decantado y ahora al maíz se convierte en nixtamal, el cual es lavado dos o tres veces con agua para remover el pericarpio; mientras que en el año 2004, el mismo autor, indica un tiempo de cocción en agua alcalina durante aproximadamente 50-75 min, con un tiempo de reposo de 10-12 h. Los granos cocidos se lavan para remover el exceso de cal del grano el cual es convertido a masa para hacer tortillas.

Arambula y cols, (2001), mencionan que por cada kg de grano de maíz se agrega de 2 a 3 L de agua, adicionada con un álcali, preferentemente  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , y sometidos a temperaturas ligeramente menores a la ebullición durante 35 a 45 minutos, después se deja reposar entre 12 y 14 horas en la solución alcalina.

### **2.1.3.2 Pérdidas y disponibilidad de nutrientes**

Durante las distintas etapas del proceso de nixtamalización, y debido a los múltiples factores que intervienen en ella, pueden ocurrir una gran variedad de reacciones físicas y químicas en los carbohidratos, en las proteínas y algunos otros componentes, así como en las características de la masa (Badui, 1993).

Los mayores beneficios de la nixtamalización son que mejora el sabor del producto, la calidad de proteína, disponibilidad de niacina e incrementa el contenido de calcio en el maíz procesado, entre 20 y 30 veces más, además aumenta la disponibilidad de lisina (Dombrink-Kurtzman y cols, 2000; Dickerson, 2003, Figueroa y cols, 2001), mientras que a la vez se minimizan los cambios en aminoácidos esenciales y ácidos grasos en el producto final (Karahadian y Johnson, 1993).

El tratamiento alcalino-térmico involucrado en el proceso de nixtamalización causa pérdidas de 5.8-12.5% de materia seca, constituidas por fracciones del pericarpio, almidón, proteína y germen. Estas pérdidas incrementan cuando se utilizan altas

concentraciones de cal, al procesar a altas temperaturas y largos tiempos de cocción (Martin-Martinez y cols, 2003).

Durante la nixtamalización, gran parte del calcio proveniente del álcali usado se queda en el pericarpio del grano, el cual se elimina durante el lavado del nixtamal. Si este es excesivo, a fin de eliminar la mayor cantidad de pericarpio y tener tortillas más blancas, se elimina gran parte del calcio, con el consecuente impacto nutricional (Flores y cols, 2002).

El exceso de cal, puede provocar una sobregelatinización de almidones, aumento de la adhesividad, resecamiento y endurecimiento más rápido de la tortilla (Rangel-Meza y cols, 2004).

En el proceso de elaboración de tortilla el contenido de hierro y fósforo se incrementa entre 37 y 15%, (Flores y cols, 2002, Bressani y cols, 1985) respectivamente, y para calcio 20%; también aumenta la disponibilidad de niacina (vitamina importante para evitar la pelagra), que de manera natural no se encuentra disponible y, por lo tanto, no puede aprovecharse (Flores y cols, 2002).

Los cambios se deben a las pérdidas materiales de grano y a las pérdidas químicas, que pueden derivar de la destrucción de algunos elementos nutritivos y de la transformación química de otros. En la tabla 5 se muestra la composición aproximada del maíz en bruto y de las tortillas caseras así como de las elaboradas industrialmente. Se exponen los cambios en el contenido de grasas y fibras crudas y en algunos casos un aumento del contenido de cenizas. Los valores correspondientes a las tortillas tanto de producción casera como industrial son relativamente constantes para la mayoría de los elementos químicos, salvo las grasas, que presentan valores más elevados en las tortillas industriales (ONUAA, 1993).

**Tabla 5.** Composición aproximada del maíz en bruto y de las tortillas de fabricación casera e industrial

Producto	Humedad (%)	Proteínas (%)	Grasas (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	Hidratos de carbono (%)	Calorías (por 100g)
<b>Maíz</b>							
Blanco	15.9	8.1	4.8	1.3	1.1	700	356
Amarillo	12.2	8.4	4.5	1.1	1.3	73.9	370
Blanco	13.8	8.3	-	1.2	-	-	-
<b>Tortillas</b>							
Blanco	47.8	5.4	1.0	0.8	0.7	44.5	204
Amarillo	47.8	5.6	1.3	0.8	0.6	44.4	212
Blanco	41.9	5.8	-	0.9	-	-	-
Industrial	40.5	5.8	0.9	1.1	1.4	50.3	226
Industrial	44.0	5.3	3.4	1.2	0.7	42.8	215
Industrial	45.2	5.2	3.1	1.4	1.1	41.1	206

Fuente: ONUAA, 1993

Existen pocos estudios acerca de las pérdidas de nutrientes durante la transformación del maíz en tortillas, pese a que la elaboración da lugar a cambios considerables. En ella se produce una pérdida de sustancias extraíbles con éter de 33% en el maíz amarillo y 43% en el maíz blanco, que se puede atribuir parcialmente a la pérdida del pericarpio, la capa de aleurona, la piloriza y de parte del germen, partes del grano que contienen sustancias extraíbles con éter. Se ha establecido que las pérdidas de fibra cruda ascienden aproximadamente al 46% en el maíz y al 31% en el maíz amarillo. El tratamiento con cal a 96°C durante unos 55 minutos hidroliza el pericarpio, que se elimina durante el lavado, arrastrando con él la piloriza, a lo que cabe atribuir en gran medida las pérdidas de fibra. Las pérdidas de nitrógeno ascienden a aproximadamente 10 y 5% en el maíz blanco y en el amarillo, respectivamente. También en este caso pueden deberse parcialmente a las pérdidas materiales del pericarpio y la piloriza. Aunque las tortillas puedan tener, a humedad igual, un contenido ligeramente superior de proteínas que el maíz original, este hecho puede deberse al efecto de concentración dado que se pierden azúcares solubles del grano. El contenido de cenizas aumenta por la absorción de cal, que da lugar a un aumento considerable del contenido de calcio. Pérdidas significativas se

dan en el contenido de tiamina (52 a 72%), riboflavina (28 a 52%) y niacina (28 a 36%), (ONUAA, 1993).

- **Grasas y ácidos grasos.** Bressani y cols, (1958) hallaron sustancias extraíbles con éter con valores del 33 y 43% en el maíz amarillo y blanco, respectivamente, elaborados en hogares campesinos guatemaltecos.
- **Contenido de fibras.** El contenido de fibra cruda disminuye cuando se transforma el grano en tortillas. Diversos investigadores han explicado cómo y porqué tiene lugar esa pérdida. En 1979, aplicando la metodología de Van Soest, que es más moderna, se halló un aumento importante de fibra neutrodetergente (FND) y de fibra ácidodetergente (FAD) en las tortillas, del 6,60 y 3,75 por ciento sobre el peso en seco, respectivamente. Dichos valores diferían radicalmente de los hallados en la masa, que eran en promedio 5,97 y 2,98 por ciento, respectivamente. No se halló diferencia alguna en lo que respecta a la hemicelulosa: la masa contenía un 3,18 % y las tortillas un 2,89 %. Empleando ese mismo método.
- **Cenizas.** Los investigadores no han prestado mucha atención a los cambios en el contenido de cenizas, si bien la mayoría de los estudios realizados han puesto de manifiesto un aumento del contenido total de cenizas en la transformación del maíz en tortillas, como cabía esperar por la cal que se utiliza para la cocción. Junto a esto se da un aumento importante del contenido de calcio. Según ONUAA (1993), en el contenido de calcio de la masa influyen los niveles de cal, las temperaturas de cocción y remojo y las características del maíz. Los cambios del contenido de otros minerales varían y dependen posiblemente de la pureza de la cal empleada y del tipo de aparato de molienda utilizado. En un estudio realizado por Bressani y cols, 1958, el contenido de magnesio pasó del 8 al 35 % del maíz a la tortilla; el de sodio no experimentó cambio alguno y se advirtió una pequeña disminución del de potasio. También aumentaron los valores del contenido de hierro, aunque posiblemente se debía a la

contaminación. Asimismo, aumentó el contenido de fósforo entre el maíz y la tortilla, según diversas investigaciones.

La utilización de hidróxido de calcio en la transformación del maíz en tortillas aumenta considerablemente (hasta en un 400%) el contenido de calcio del producto. Diversos estudios de biodisponibilidad llevados a cabo con animales mostraron que había menos calcio disponible en el maíz tratado en agua de cal (85.4%) que en la leche desnatada (97%). La biodisponibilidad del calcio aumentó cuando se suplementó el maíz tratado en agua de cal con sus aminoácidos limitantes, esto es, lisina y triptófano. El empleo de hidróxido de calcio mejora la proporción calcio/ fósforo de las tortillas, lo que posiblemente favorece la utilización de los iones de calcio por parte del animal de experimentación. Se trata de un resultado importante para las poblaciones cuyas dietas tienen una escasa proporción de este mineral esencial.

- **Hidratos de carbono.** El maíz y las tortillas contienen cantidades considerables de hidratos de carbono solubles, pero se conoce muy poco acerca de su variación durante el proceso de cocción en agua de cal. Se han detectado pérdidas de almidón de aproximadamente el 5%, que se recuperan en los sólidos perdidos. También se constató una disminución del azúcar, que pasó del 2.4% en el maíz al 0.34% en las tortillas. La FAO reporta que se determinó que la cocción en agua de cal y la maceración del maíz daban lugar a aumentos considerables de viscosidad y que el tiempo de cocción influía notablemente en las propiedades del empastado, aunque no se daba una gelatinización difundida del almidón. Los estudios calorimétricos mediante exploración diferencial mostraron endotermias de gelatinización similares en el maíz sin tratar y en las harinas de nixtamal. A mayor tiempo de cocción, mayor es la cantidad de almidón sensible a las enzimas.
- **Proteínas y aminoácidos.** El proceso de cocción en agua de cal aumenta ligeramente el contenido de nitrógeno, debido al efecto de concentración. La

solubilidad de todas las fracciones proteicas disminuye con la transformación del maíz crudo en tortillas, con un aumento de la fracción insoluble.

Los cambios del contenido de aminoácidos en la transformación del maíz en tortillas se resumen en la tabla 6.

**Tabla 6.** Variaciones de los aminoácidos durante la cocción alcalina del maíz

Aminoácidos	Maíz	Tortilla	Maíz	Masa	Tortilla	MPC	Masa
Acido aspártico	6.2	6.2	7.2	6.9	5.8	8.4	8.4
Acido glutámico	20.3	19.0	18.8	19.5	18.9	15.4	15.7
Alanina	8.8	8.8	7.7	8.1	7.6	6.1	6.1
Arginina	5.1	4.2	5.4	4.6	5.5	8.3	7.9
Cisteína	-	-	2.0	1.7	1.9	2.5	2.2
Cistina	1.0	0.9	-	-	-	-	-
Fenilalanina	3.7	3.8	5.0	5.2	4.7	4.3	4.2
Glicina	4.8	4.8	4.0	4.3	3.5	4.7	4.6
Histidina	2.7	2.4	2.9	2.8	3.5	3.9	3.8
Isoleucina	4.2	4.5	3.7	3.8	3.5	3.4	3.3
Leucina	12.2	9.6	12.6	13.4	12.1	8.3	8.3
Lisina	3.0	2.9	3.0	2.7	2.9	5.1	5.2
Metionina	1.9	1.9	2.8	2.9	2.3	1.9	1.9
Prolina	11.0	10.1	9.2	10.7	8.7	7.0	7.6
Serina	4.5	4.2	5.0	5.0	4.7	4.4	4.5
Tirosina	3.8	3.8	4.5	4.6	4.4	3.8	3.7
Treonina	3.0	3.0	3.8	3.8	3.4	3.6	3.6
Triptófano	0.5	0.5	-	-	-	-	-
Valina	4.5	4.8	4.8	5.3	4.9	5.1	5.0

Fuente. ONUAA, 1993

MPC: Maíz de Calidad Protéica

- **Aminoácidos.** En 1958 se realizaron estudios por Bressani y cols. mediante la digestión enzimática *in vitro* con pepsina, tripsina y pancreatina. Al final de la digestión de la pepsina se puso de manifiesto que la cantidad de alfaamina, en porcentaje respecto al nitrógeno digerido, era el doble en las tortillas (43.1%) que en el maíz (21.4%); también se hallaron niveles de histidina,

isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina y triptófano más elevados en el hidrolizado de las tortillas que en el del maíz, lo que indica una liberación más rápida de las proteínas. Quienes realizaron este estudio opinaron que la diferencia de ritmo de liberación podría deberse a la considerable disminución de la solubilidad de la fracción proteica de la prolamina de las tortillas, frente a la del maíz. Otros investigadores han afirmado que, durante la elaboración del maíz, la existencia de interacciones hidrofóbicas, la desnaturalización de las proteínas y su degradación probablemente dan lugar a cambios de la solubilidad de dichos elementos, que podrían influir en la liberación de aminoácidos durante la digestión enzimática

- **Vitaminas.** Pérdidas de tiamina, riboflavina, niacina y caroteno tuvieron lugar durante la transformación del maíz en tortillas por cocción en agua de cal. En la tabla 7 se resumen los datos.

La vitamina que ha despertado la atención de diversos investigadores ha sido la niacina, por sus relaciones con la pelagra. Tras la cocción en agua de cal, el endospermo aportaba aproximadamente el 68% del total de niacina y el germen cerca del 5,5%. Después de la cocción, se halló un 26% del total en el agua de cocción. La cantidad de niacina extraída con el agua representaba el 68,5% del total en el grano en bruto, y el 76% del total en el maíz cocido en agua de cal. Estos datos se interpretaron en el sentido de que la cantidad de niacina asimilable que contiene el maíz tratado en agua de cal es ligeramente superior a la del maíz en bruto.

**Tabla 7.** Contenido de vitaminas del maíz en bruto y las tortillas (mg/100 g)

Producto	Tiamina	Riboflavina	Niacina	Acido fólico	Acidez pantoténico	Vitamina B <sub>6</sub>	Caroteno	Total de carotenoides
Maíz en bruto								
Blanco	0.38	0.19	2.00	-	-	-	-	-
Amarillo	0.48	0.10	1.85	-	-	-	0.30	1.32
Blanco	0.34	0.08	1.64	-	-	-	0.15	
Tortillas								
Blanco	0.10	0.04	1.01	-	-	-	-	-
Amarillo	0.11	0.05	1.01	-	-	-	0.12	0.41
Blanco	0.19	0.06	0.96	-	-	-	0.06	
Industrial	0.13	0.08	1.11	-	-	-	-	-
Industrial	0.07	0.04	1.61	0.014	0.24	0.12	-	-
Industrial	0.08	0.05	2.11	0.015	0.16	0.27	-	-

Fuente: ONUAA, 1993

El tratamiento alcalino del maíz, según algunos informes, destruye su factor pelagragénico. Las pruebas recogidas por un gran número de investigadores permiten suponer que la pelagra se debe a un desequilibrio de los aminoácidos esenciales que aumenta las necesidades de niacina del animal de experimentación. Esta suposición ha sido objeto de amplias discusiones entre quienes afirman que la niacina del maíz está ligada y no disponible al organismo, y quienes están a favor de la teoría de un equilibrio mejorado de aminoácidos inducidos por el proceso alcalino de cocción dado que el tratamiento con cal libera la niacina ligada.

- **Fibra dietética.** Se ha demostrado experimentalmente que al transformar el maíz en tortillas mediante cocción alcalina, la fibra dietética total disminuye en la fase de la masa y aumenta en las tortillas hasta niveles sólo ligeramente inferiores a los del maíz sin tratar. Según dichos estudios, los niveles de fibra dietética total de las tortillas ascendían por término medio al 10% del peso en seco. Si una persona consume unos 400 g de tortilla (peso en seco), la ingesta total de fibra dietética será de 40 g, valor considerablemente mayor que el de la ingesta

recomendada. Aun los niños de corta edad pueden consumir cantidades relativamente grandes de fibra que pueden influir en la disponibilidad de hierro (ONUAA, 1993).

A pesar de que el maíz nixtamalizado pierde algo de proteína, fibra, grasa y vitaminas, su calidad nutritiva es mayor que la de la materia prima; cabe mencionar que gracias a este proceso, un amplio sector de la población mexicana satisface sus necesidades diarias de calcio; aproximadamente el 40% del utilizado en la nixtamalización se retiene en el grano y en sus derivados (Badui, 2006).

Es probable que debido a las condiciones térmico – alcalinas tan drásticas a las que se someten el maíz favorecen otras reacciones como las de raceminación de aminoácidos, la síntesis de enlaces isopeptídicos y la formación de isoalanina (Badui, 1993).

### **2.1.3.3 Productos derivados del nixtamal**

El maíz es el grano de cereal más consumido por grandes sectores de la población urbana y rural en Centroamérica y México, el cual es convertido en productos comestibles a través del proceso de nixtamalización. Principalmente es transformado en tortilla siendo un alimento que proporciona cantidades significativas de calorías, proteínas y otros nutrientes a la dieta de grandes sectores de la población de Centro América (Bressani y cols, 2001).

En México la tortilla forma parte de la dieta de todos los estratos sociales, con un consumo per cápita de 120 kg anuales, esto es, 328 g/día de tortilla. La tortilla sola provee 38.8% de las proteínas, 45.2% de las calorías y el 49.1% de calcio de la dieta diaria de la población y en zonas rurales provee aproximadamente el 70% del total de calorías y el 50% de las proteínas ingeridas diariamente (Figueroa y cols, 2001).

Las operaciones que se llevan a cabo para transformar el maíz en tortilla son ajustadas por el ama de casa de acuerdo a factores como variedad del maíz, la dureza del grano, la humedad, el tiempo de almacenamiento y la integridad física del grano. Sin embargo, para la industria la uniformidad de la materia prima es fundamental con respecto a la dureza, tamaño y calidad del grano, para mayor eficiencia en la transformación y menor pérdida de sólidos durante la cocción. Asimismo, el tipo de grano debe adaptarse a las condiciones de procesamiento para dar un producto que llene las características de funcionalidad y sabor que reclama el consumidor (Billeb y Bressani, 2001).

Rangel-Meza y cols, (2004) indican que en la evaluación de los alimentos no hay un consenso sobre el tipo de pruebas a utilizar, sean sensoriales u objetivas, sin embargo, se ha considerado que las tortillas de buena calidad se obtienen a partir de masas cuya dureza se encuentra entre  $8.7 \times 10^{-4}$  a  $1 \times 10^{-5}$  N/m<sup>2</sup>, adhesividad entre 0.01 y 0.03 N-m, y factor de tensión de conversión (FCT) entre 2.4 y 2.7.

Algunos parámetros de análisis de la calidad de la tortilla son: pérdida de peso, inflado, rolabilidad, color, olor y sabor, tensión, corte, análisis químico proximal, análisis de vitaminas hidrosolubles y análisis de minerales (calcio, fósforo, hierro y zinc), los cuales fueron empleados por Figueroa y cols, (2001).

## **2.2 Frijol (*Phaseolus vulgaris*)**

Las leguminosas siguen a los cereales en importancia como fuentes de alimento para el ser humano, son la carne vegetal del mundo, y se asemejan en valor proteico a la carne de los animales (Desrosier, 1999).

El frijol se conoce con los nombres de fréjol, judía o alubia, que pertenecen a la gran familia de las leguminosas. La característica principal de las leguminosas es que su fruto o semilla se presenta en forma de vaina, y que es conocida como legumbre. Es un cultivo que se practica desde hace 4 000 años. Se cree que es nativo de la zona

ubicada entre México y Guatemala. Pertenece al género *Phaseolus*. La especie más importante hasta ahora es el frijol común, ver tabla 8. Por su amplia adaptación, el frijol es en América uno de los cultivos hortícolas más comunes (Parsons, 1990).

**Tabla 8.** Clasificación taxonómica del frijol

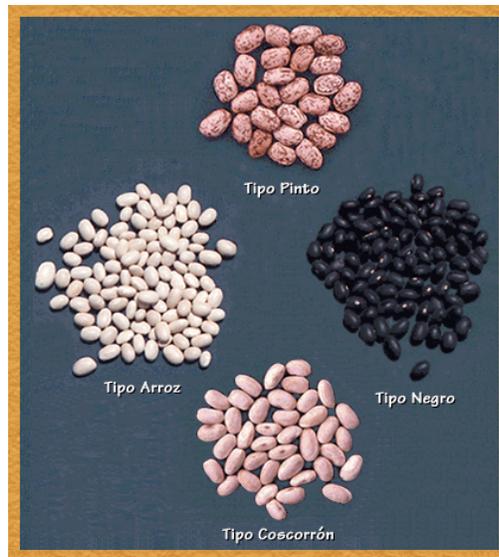
Categoría	Grupo taxonómico
Super reino	Eucariota
Reino	<i>Plantae</i>
División	Magnoliofitas
Subdivisión	-----
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Rósidas
Orden	Fabales
Familia	<i>Leguminoceae</i>
Género	<i>Phaseolus</i>
Especie	<i>Phaseolus vulgaris</i>

Fuente: Soriano, 2006

Las principales regiones productoras y consumidoras de frijol en el mundo son África, India, América Latina y México. En las áreas rurales de México el consumo de frijol en una dieta normal representa el 15% (Sáyago- Ayerdi y cols, 2005).

### 2.2.1 Estructura morfológica.

Las semillas de frijol presentan una gran variación de colores, formas y tamaños; entre los colores se puede señalar el blanco, el amarillo, el beige, el café, el rojo, el negro o combinaciones de algunos de ellos; las formas, en tanto, pueden ser cilíndricas, arriñonadas, esférica, ovaladas, ver figura 3. ([http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)).



Fuente: [http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index3.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index3.htm)

**Figura 3.** Semillas de cultivares pertenecientes a los tipos pinto, arroz, negro y coscorrón

Las partes externas más importantes del grano de frijol se presentan en la figura 4, se detallan a continuación:

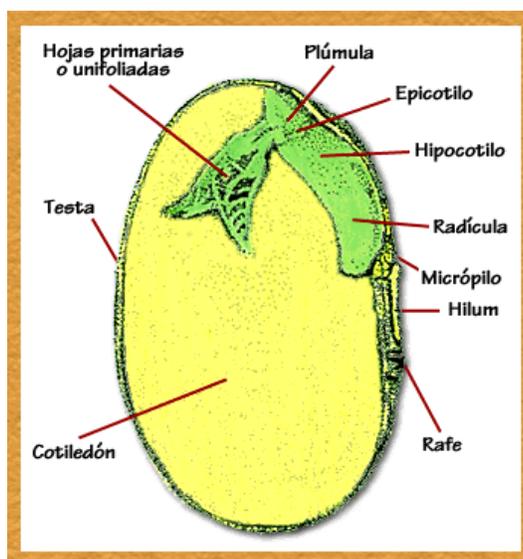
Testa o cubierta: corresponde a la capa secundaria del óvulo.

Hilum: corresponde a la cicatriz dejada por el funículo; esta última estructura conecta la semilla con la placenta.

Micrópilo: corresponde a una abertura natural existente en la semilla localizada cerca del hilum; permite la absorción de agua para el proceso de germinación.

Rafe: corresponde a un lóbulo que proviene de la soldadura del funículo con los tegumentos externos del óvulo.

Bajo la testa, la semilla presenta dos cotiledones y un eje embrionario; éste último está formado por la radícula, el hipocotilo, el epicotilo, la plúmula y las dos hojas primarias o unifoliadas ([http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)).



Fuente: [http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)

**Figura 4.** Semilla de frijol y sus estructuras.

### 2.2.2 Composición nutricional

El frijol se cultiva principalmente con el fin de cosechar semilla seca y en menor proporción para la producción de vaina, o sea, frijol ejotero (Parsons, 1990). Los nutrimentos que contiene la semilla son importantes y definen su valor nutrimental. Siendo una fuente importante de proteínas de bajo costo en comparación con la proteína de origen animal, así mismo es fuente de carbohidratos; por su contenido de almidón y de fibra cruda, el primero representa 50% del peso de la semilla (Jacinto-Hernández y cols, 2002), Ver tabla 9.

**Tabla 9.** Composición promedio de una semilla de frijol

Componentes	Porcentajes (%)
Humedad	10.0 – 12.0
Carbohidratos	58.0 – 60.0
Proteína	21.0 – 23.0
Grasa	1.5 – 2.0
Fibra	4.0 – 5.0
Ceniza	3.0 – 3.5

Fuente: [http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)

La calidad nutricional de la proteína está relacionada principalmente con la composición de aminoácidos (Wu y cols, 1996). La proteínas del frijol común se caracterizan por ser deficientes en aminoácidos sulfurados (metionina y cisteína) y triptófano (Sáyago-Ayerdi y cols, 2005), presenta varios componentes antinutricionales y tóxicos, además de baja digestibilidad de la proteína del frijol (Antunes y Sgarbieri, 1980).

### 2.2.3 Procesamiento

En México, los principales productos industrializados de frijol, están representados por el frijol enlatado, ya sea cocido, o en diferentes preparaciones del tipo casero. Estos productos han venido a sustituir en parte a las harinas precocidas, las que tuvieron un uso limitado en el mercado, probablemente a causa de las características sensoriales del producto. Las diferentes presentaciones del frijol enlatado permiten una mayor diversificación de los platillos elaborados a base de frijol cocido (Acosta-Gallegos y Pérez, 2006).

#### 2.2.3.1 Técnicas de cocción

Los frijoles secos pueden ser cocidos fácilmente en olla de presión, microondas, también en ollas de lento cocimiento, o en una olla con tapa.

El remojo de los frijoles reduce el tiempo de cocción, utilizando cinco tazas de agua caliente por cada taza de frijol. Para un remojo más sencillo se agrega el agua a una olla y se calienta por dos minutos, se remueve y se deja reposar durante 1 h.

- **Olla de presión.** Consiste en un cocimiento rápido en una olla de presión, a 15 libras de presión durante 25 minutos. Previamente a esto, el frijol debe lavarse e hidratarse para facilitar el proceso de cocción, además se le adiciona aceite vegetal y sal.
- **Microondas.** Después de remojar, colocarlos en agua fresca por 8 a 10 min hasta ebullición; luego cocer a 50% de potencia durante 15-20 min o hasta que los frijoles estén blandos.
- **Olla.** Estando en remojo los frijoles en agua fresca y son llevados a un calentamiento rápido. Para reducir el tiempo de cocción. se cubre y se deja cocer, si es necesario se agrega agua. El tiempo de cocción depende de la dureza del agua y la altitud, usualmente de 2 a 3 h.
- **Olla de lento cocimiento.** Se siguen las indicaciones manufactureras. Si las indicaciones no están disponibles, agrega agua fresca a la olla, los frijoles, calentar hasta ebullición y reducir el calor a fuego lento, de 4 a 6 h (Jonson, 2004).

### 2.2.3.2 Enlatado

El enlatado se hace para preservar el producto durante periodos prolongados. Se da un tratamiento térmico al producto para destruir los microorganismos e inactivar enzimas. La lata sirve como recipiente para contener porciones pequeñas del producto para el tratamiento térmico y protegerlas de contaminación después de aplicado procedimiento. El procedimiento se lleva bajo condiciones muy bien controladas, primeramente el frijol se lava, se clasifica, algunas veces se quita el hollejo; unos se cortan y se colocan en el recipiente. Los materiales de uso más común son de metal o vidrio. Durante el procesamiento por tratamiento térmico debe destruirse *Clostridium botulinum* (Desrosier, 1999).

La esterilización se lleva a cabo a temperatura de 115° a 121°C durante menos de una hora. Los minerales del agua pueden sufrir un tremendo efecto sobre la calidad del frijol enlatado. Para la cocción se prefiere agua blanda. El cloruro de calcio en el agua de enlatado hace que los frijoles se endurezcan; el carbonato de sodio produce el reblandecimiento de los tejidos (Desrosier, 1999).

### **2.2.3.3 Cambios bioquímicos por el cocimiento**

Las leguminosas son excelente fuente de proteína, carbohidratos, fibra, minerales y otros nutrientes pero durante el proceso de cocción puede cambiar la composición del alimento como su valor nutricional (Candela y cols, 1997)

La cocción gelatiniza el almidón, altera la textura, y mejora el sabor, de esta manera se logra que las leguminosas se hagan apetecibles. El calor moderado aumenta la disponibilidad de las proteínas en la mayoría de las leguminosas, y en algunas elimina sustancias tóxicas (Charley, 1991, Candela y cols, 1997). Cuando los frijoles están en contacto con el agua caliente o fría, puede existir cierta lixiviación (especialmente de los nutrientes solubles en agua) de vitaminas y minerales de las leguminosas hacia el agua. El calor destruye algunos compuestos termolábiles tales como inhibidores de proteasas, emaglutaninas, etc., desnaturaliza proteínas e incluso produce un cierto grado de hidrólisis, lo cual conduce a una predigestión proteica que facilita la digestión posterior del alimento (Serrano y Goñi, 2004).

Además, el proceso de cocción afecta las características fisicoquímicas y estructurales de los polisacáridos, puede influir en algunas de las propiedades fisiológicas y metabólicas de las legumbres, tales como respuesta a bajo índice glicémico y efectos hipocolesterolemico (Marconi y cols, 2000).

## **2.3 Análisis proximal de alimentos**

### **2.3.1 Determinación de humedad.**

Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; se calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo condiciones normalizadas (Pearson, 1998).

La desecación en horno de aire o vacío a 70-140°C se consideran métodos directos y veraces siempre que no se produzca descomposición técnica de la muestra y que el agua sea el único componente volátil eliminado. La muestra se deseca hasta peso constante en una estufa de aire (Osborne y Voogt, 1986).

### **2.3.2 Determinación de cenizas.**

La materia orgánica se quema a la temperatura más baja posible y la materia remanente se enfría y se pesa. El calentamiento se realiza en etapas, primero, para eliminar el agua, a continuación para carbonizar el producto totalmente y, finalmente, para incinerar en horno de mufla a 550°C (Osborne y Voogt, 1986).

### **2.3.3 Nitrógeno total y proteína bruta.**

El análisis de proteínas es de gran importancia en la determinación del valor nutritivo de los alimentos. En este contexto la determinación de proteína e índice químico, como la composición de aminoácidos, dando una estimación de la calidad de proteína. Para la determinación del índice químico, las proteínas son primeramente hidrolizadas en aminoácidos y luego son analizados. Sin embargo, se presentan serios problemas relacionados con esta operación (Wathelet, 1999).

El producto se digiere con ácido sulfúrico concentrado utilizando sulfato de cobre como catalizador para convertir el nitrógeno orgánico en iones amonio. Se añade

álcali y el nitrógeno liberado se destila hacia un exceso de solución de ácido bórico. El destilado se titula con ácido clorhídrico para determinar el amoníaco absorbido por el ácido bórico (Osborne y Voogt, 1986).

## **2.4 Cuantificación de tirosina y triptófano por cromatografía de líquidos**

### **2.4.1 Fundamentación del método**

La cromatografía de líquidos de alta resolución es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada por su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, fármacos, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una variedad de sustancias orgánicas (Skoog y cols, 2001).

En este método dos sustancias se separan en una fase móvil líquida. La elusión implica el transporte de una especie a través de la columna por adición continua de una nueva fase móvil, en donde una única muestra se introduce en la parte superior de la columna después de lo cual los componentes de la muestra se distribuyen entre las dos fases. La introducción de la fase móvil adicional (eluyente) hace que la fase móvil que contiene una parte de la muestra avance por la columna, donde tiene lugar un posterior reparto entre la fase móvil y las porciones de la fase estacionaria a las que accede (Skoog y cols, 2001).

La columna en cromatografía líquida se constituye normalmente de acero aunque también existen columnas de vidrio, material polimérico, y en el caso de microcolumnas, sílice fundida. El material de relleno se mantiene en el interior del tubo mediante cierres porosos de metal o vidrio. El papel del detector es proporcionar

información sobre la presencia de las especies separadas en la columna cromatográfica y, por tanto, al no existir un detector realmente universal se debe elegir en función de las características de las especies de interés o bien, si no se dispone del detector más adecuado, se recomienda derivatizar las especies con objeto de hacerlas detectables con la instrumentación disponible (Cela y cols, 2002). Los detectores más utilizados en los laboratorios analíticos son: el de UV/Visible, detector de índice de refracción, detector de fluorescencia, detector electroquímico y detector de conductividad (Skoog y cols, 2001).

#### **2.4.2 Preparación de la muestra**

Tras la rotura de los enlaces peptídicos por hidrólisis ácida, el análisis más frecuente es la cuantificación de los aminoácidos que componen la proteína. Para ello se recurre a la cromatografía de intercambio iónico con una elusión selectiva y una detección espectrofotométrica, tras derivación post-columna. El método corriente se aplica al conjunto de los aminoácidos a excepción del triptófano (destruido durante la hidrólisis ácida), los aminoácidos azufrados (que son oxidados parcialmente y que aparecen como diversos picos cuyas áreas se han de sumar) y la aspargina y la glutamina que son desaminados respectivamente a ácido aspártico y glutámico. La muestra se somete a hidrólisis ácida en un gran volumen de HCl 6 N para minimizar las reacciones con los azúcares reductores y los aldehídos; el tratamiento se hace a 105-115°C durante 24 h. El hidrolizado tras neutralización o eliminación del HCl, se lleva a sequedad, se redisuelve en un volumen pequeño y una alícuota se deposita en una columna de resina Dowex 50, Amberlita IR-20 u otra análoga, en forma ácida. La composición de aminoácidos, en el campo agroalimentario y nutricional, no se expresa como cantidad por 100 g de producto, sino en porcentaje de proteína bruta, cuya tasa es el resultado de multiplicar el nitrógeno total por el factor de conversión apropiado. Los hidrolizados alcalinos son indispensables para la determinación de triptófano, cuantitativamente destruido en un medio ácido; se realiza en medio sódico o bórico de 3 M a 5 M durante 24 h a 110°C (Jean y cols,

2000). En la tabla 10 se presenta la metodología seguida para el manejo de la muestra realizado por diversos autores en investigaciones realizadas previamente.

**Tabla 10.** Tratamientos de preparación de la muestra

Autor	Procedimiento
Mbithi-Mwikya y cols, 2000	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Para aminoácidos totales. La muestra es hidrolizada con HCl 6M durante 20 h bajo reflujo y un continuo flujo de nitrógeno. El hidrolizado se filtra. Una alícuota del filtrado es secada a 40°C en un rotavapor. El residuo se redisuelve con buffer a pH de 2.2 hasta un volumen de 25 ml. Después se filtra (0.22µm) y 50 µL de la muestra son analizados.</li> <li>• Para triptófano, las muestras frijol y mijo son desgrasadas con acetona agitando durante 30 min. 100mg de frijol seco y desgrasado se extraen con 5 ml de NaOH 0.2%, y se centrifugan por 30 min. Después, el residuo es re-extraído con 50 ml de NaOH 0.2%, y los sobrenadantes son combinados y analizados.</li> </ul>
Zarkadas y cols, 2000	Las muestras son hidrolizadas al vacío a ebullición constante con HCl (6.0 M) conteniendo un 0.2% (v/v) de fenol y 5 µL de ácido octánico a 110± 0.5°C por 24 h.
Piombo y Lozano, 1980	Para 500 mg de leguminosa molidos finamente o harina de cereal (40 µm) que contienen 0.10-0.25% (w/w) de triptófano, se agregó 10 ml de solución alcalina (NaOH o Ba(OH) <sub>2</sub> ). La hidrólisis química se realiza a 110°C durante toda la noche (15 h). El hidrolizado se neutraliza con ácido sulfúrico (3.6 N).
Oudh y cols, 1957	El triptófano fue estimado por un método microbiológico de Wooley y Sebrell, con modificación en la hidrólisis enzimática, el material fue esterilizado a 15 lb de presión con 75 ml de agua por 30 min.
Delhaye y Landry, 1993	El triptófano es evaluado por un procedimiento convencional donde la muestra se somete a ebullición en presencia de hidróxido de bario 2.7N, y la neutralización del hidrolizado se realiza con HCl 6N, la cuantificación del triptófano se realiza por HPLC, fase reversa y la cuantificación por fluorimetría.
Candela, y cols, 1997	La grasa es removida con éter de petróleo y las muestras son sometidas a hidrólisis ácida con HCl 6N (110°C/22h). El ácido clorhídrico se evapora y las muestras hidrolizadas se disolvieron en HCl 0.1N.

### 2.4.3 Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas generales que se han utilizado en diversos trabajos para la identificación y cuantificación de aminoácidos se presentan en la tabla 11.

**Tabla 11.** Condiciones cromatográficas utilizadas para la determinación de tirosina y triptófano

Referencia	Analito	Columna	Fase móvil	Detección
Candela y cols, 1997	Aminoácidos totales incluyendo tirosina	Anova Pack C <sub>18</sub> (3.9 x 300 mm)	Bomba A: 25% de acetonitrilo, 70 mM de buffer 3- hidro acetato de sodio; bomba B: acetnitrilo/agua (3:2).	UV 225 nm
Meyer, y cols, 1995	Triptófano y péptidos	Fase reversa C <sub>18</sub> (152 x 4 mm )	Agua bidestilada y acetonitrilo/agua	UV 219 nm
Friendman y Cuq, 1988	Triptófano	Fase reversa C <sub>18</sub>	Metanol y buffer de acetato de sodio 0.01M	Fluorescencia Ex =365nm, Em = 418 nm
Wu y Tanoue, 2001	Triptófano	Spherisob 5µ OSD, 4.6 x 250 mm	Solvente A. Buffer 90% acetato de buffer y 10% de mezcla acetonitrilo, con 0.05 M de acetato de sodio. Solvente B.acetonitrilo 100%	Fluorescencia Ex =336nm, Em = 445 nm
Landry y Delhaye, 1992	Triptófano	Nova Pak C <sub>18</sub>	Buffer de acetato de sodio(80:20) metanol	Fluorescencia Ex=285nm,Em=345 nm
Brückner y Westhauser, 2003	L- y D-aminoácidos	Hipersil ODS 5µm fase estacionaria	Acetato de sodio 23 mM y CH <sub>3</sub> OH/acetonitrilo	Fluorescencia Ex=230nm,Em=445 nm

### III METODOLOGÍA

#### 3.1 Ubicación del experimento

El experimento se realizó en el laboratorio LV-712 del Instituto Tecnológico de Sonora, unidad Obregón-Náinari, ubicado en Antonio Caso s/n en Cd. Obregón, Sonora, México.

#### 3.2 Infraestructura disponible

El equipo de laboratorio utilizado fue:

- Centrífuga Modelo C-600 Marca SOL-BATH S. A.
  - Minivortex Marca WVR
  - Horno presión-vacío modelo 5831 Marca NATIONAL
-

- INCUBADORA Marca COLE PARMER
- Incubadora Marca HOTPOINT
- Potenciómetro Modelo 340 Marca CORNING
- Sonificador Modelo 1510 Marca BRONSON
- Refrigerador Modelo WRT14TKX Marca WHIRPOOL
- Balanza electrónica Marca OHAUS SCOUT II
- Braun Type: 4041 Modelo: KSM2 (4)
- Mufla Bransteas Thermoline 62700 Modelo F62735

### **3.3 Preparación de las muestras**

Los productos que se analizaron fueron frijol refrito enlatado, maíz nixtamalizado y tortilla. Se evaluaron cinco, cuatro y cinco muestras respectivamente, obtenidos de diferentes supermercados y tortillerías de la localidad (en el caso de tortilla y nixtamal). Cada muestra se dividió en tres submuestras y posteriormente fueron secadas en una estufa de vacío por 24 horas a 35 °C, cada submuestra se pulverizó y almacenó para hacer la determinación del contenido de humedad, cenizas y proteína cruda presente en la muestra seca.

- **Extracción de triptófano y tirosina libres**

Los aminoácidos fueron extraídos de las muestras secas con agua ácida. Específicamente, 100 mg de muestra seca, finamente pulverizada, fueron disueltos en un matraz volumétrico de 50 ml con agua acidificada a pH 6.3 con HCl 0.1M, para obtener una concentración de 0.5 mg/ml de muestra. Posteriormente, las muestras fueron sonificadas (BRONSON, USA, modelo 1510) por 2 minutos para su completa disolución, luego centrifugadas a 1300 rpm durante 20min; filtradas en membrana 0.45 µm y finalmente analizadas por HPLC.

### **3.4 Análisis proximal**

#### **3.4.1 Análisis de humedad**

El contenido de humedad de las diferentes muestras se determinó, por duplicado, en un horno con recirculación de aire a 60 °C por 5 horas, hasta tener un peso constante (AOAC, 1984). Esto con la finalidad de expresar los resultados en base seca.

#### **3.4.2 Determinación de cenizas**

El contenido de cenizas se determinó, por duplicado, en una mufla a 550 °C por 5 horas, hasta tener un peso constante (AOAC, 1984).

#### **3.4.3 Análisis de proteínas**

El contenido de proteínas se determinó por el método Rapid Kjeldahl con Rapid Digester-25 y Rapidstill II Labconco, factor de conversión 6.25 (AOAC, 1984).

### **3.5 Cuantificación de tirosina y triptófano**

#### **3.5.1 Estándares y reactivos**

Los estándares L-triptófano y L-tirosina fueron obtenidos de Sigma (St. Louis, MO, EUA). Todas las soluciones fueron preparadas con agua ultrapurificada con un sistema NANO Pure Diamond UV (Branstead International, Dubuque, Iowa, EUA). Metanol grado HPLC obtenido de AMD CHOMASOLV (Steinheim, Alemania). El ácido acético glacial, ácido bórico, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio y acetato de sodio anhidro, todos grado analítico, fueron obtenidos de Productos Químicos Monterrey (Monterrey, Nuevo León, México).

Los estándares de aminoácidos fueron diluidos en HCl 0.1M a diferentes concentraciones y calculados para su calibración. El agua ácida utilizada en el análisis de los aminoácidos libres consistió en agua ultrapura (NANO pure Diamond UV) acidificada a pH 6.3 con HCl 1M. La fase móvil consistió de una mezcla de solución amortiguadora de acetato de sodio 40 mM ajustado a pH 4.5 con solución de ácido acético glacial/agua (1:4), con 20% de metanol.

### 3.5.2 Equipo y condiciones HPLC

Para el análisis cromatográfico se utilizó un sistema HPLC (GBC, Dandenong, Australia) equipado con autoinyector LC1650, desgasificador de solventes LC1460, bomba cuaternaria LC1150, detector de fluorescencia LC1255S y sistema WinChrom de análisis de datos cromatográficos.

Las condiciones cromatográficas para la separación simultánea de triptófano y tirosina se indican en la tabla 12. El programa de detector de fluorescencia inició a las longitudes de onda óptimas para la tirosina por 5.8 min, y posteriormente fueron cambiadas automáticamente por las longitudes de onda óptimas para el triptófano. El tiempo total entre inyecciones fue de 15 minutos.

**Tabla 12.** Condiciones cromatográficas óptimas para el análisis

Parámetro	Condiciones
Columna	4.6 mm SS Exil ODS 250 mm, 5µm
Fase móvil	Sistema isocrático: Buffer de acetato de sodio:metanol pH 4.51
Velocidad de flujo	0.8 ml/min
Detección	Fluorescencia Triptófano: Ex: 280 nm, Em: 348 nm Tirosina: Ex: 274 nm, Em: 304 nm
Temperatura	34 °C

### **3.5.3 Análisis de los datos**

Las variables que se evaluarán son las concentraciones de tirosina y triptófano presentes en las distintas muestras. El conjunto de datos que se obtenga al finalizar este experimento será analizado con el paquete estadístico SPSS versión 12.0, empleando un diseño completamente al azar.

## **IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los resultados que se presentan a continuación forman parte de un estudio nutricional de alimentos típicos de la dieta de los mexicanos, por lo tanto, las muestras analizadas son maíz nixtamalizado, tortillas elaboradas con maíz nixtamalizado, torrillas preparadas con harinas industrializadas, y en frijoles refritos enlatados que se obtuvieron de los comercios locales. La composición proximal ha incluido la determinación de humedad, proteína y cenizas, esto fue complementado con la identificación y cuantificación de tirosina y triptófano libres por HPLC.

### **4.1 Contenido de humedad**

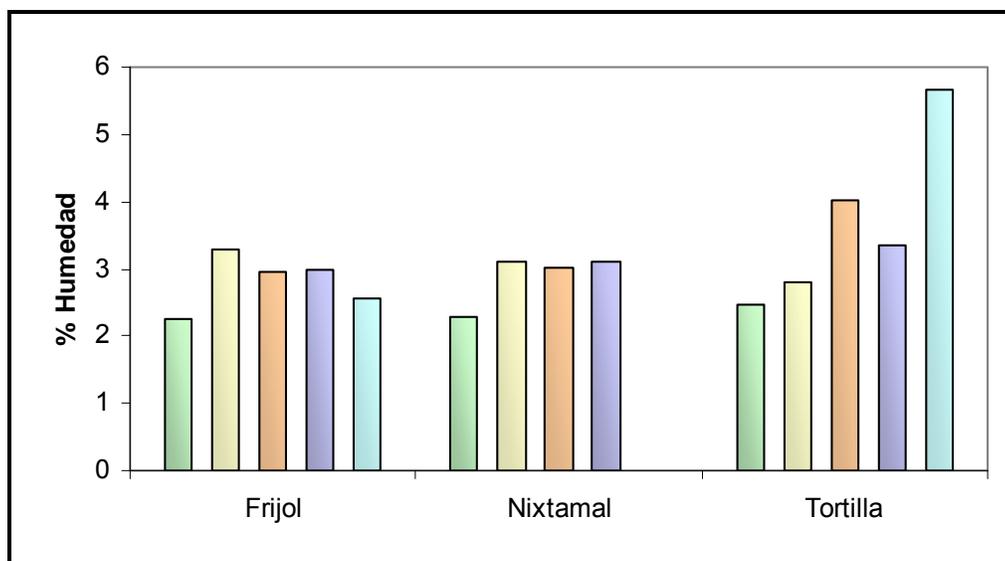
En la tabla 13 y figura 5 se muestra el contenido de humedad de las diferentes muestras. El rango de humedad en frijol de 2.25 a 3.30%, en nixtamal de 2.27 a 3.11%, y en tortilla de 2.47 a 5.66%, con un promedio de 3.36, 2.34 y 2.87% para frijol, nixtamal, y tortilla, respectivamente. Ozorio-Díaz y cols, (2003) obtienen de

---

4.44, 6.57 y 7.12% de humedad en 3 harinas de frijoles enlatados, esto sugiere que los procesos usados en los frijoles no tienen una función importante en la absorción de humedad final de las harinas. Marconi y cols, (2000) reportan un 10.4 % de humedad en frijol crudo, similar a lo que reportan Serrano y Goñi, (2004) para frijol negro con un 10.6%. Reye-Moreno y Paredes-López, (1993) indican que la calidad de los frijoles puede ser preservada controlando el contenido de humedad.

**Tabla 13.** Contenido de humedad

<b>Muestra</b>	<b>% de Humedad</b>
<b><i>Frijol</i></b>	
F1	2.25
F2	3.30
F3	2.96
F4	2.97
F5	2.56
<b><i>Nixtamal</i></b>	
M1	2.27
M2	3.11
M3	3.02
M4	3.10
<b><i>Tortilla</i></b>	
T1	2.47
T2	4.02
T3	2.81
T4	3.35
T5	5.66



**Figura 5.** Representación grafica del contenido de humedad

Bressani y cols, (1958) reportan humedad de 15.9% para maíz crudo 49.1% en nixtamal, 61.9% en masa y 47.3% en tortilla de maíz blanco. Billeb y Bressani, (2001) presentan humedad final promedio de las harinas de maíz nixtamalizadas de 4.88%, que resultan bastante bajas comparadas con las harinas comerciales que están entre 9.4 y 11.3% de agua, reportadas en la publicación de Flores y cols, (2002). Este factor influye generalmente en el tiempo necesario para la hidratación indican Billeb y Bressani, (2001). Mientras que en otro estudio realizado por Bressani y cols, (2001) acerca de la caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas reportan un valor promedio de 10.09%, por otra parte Figueroa y cols, (2001) reportan 8.72% de humedad para maíz y 7.74% para tortilla de nixtamal.

#### 4.2 Contenido de cenizas

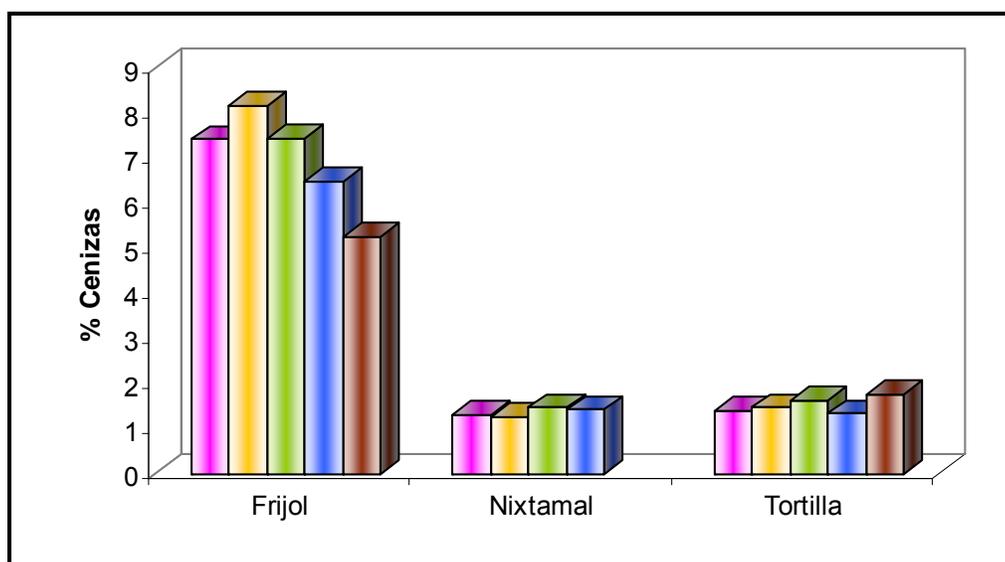
En la tabla 14 y figura 6, se presentan los resultados de la cantidad de cenizas que se encuentran en las muestras estudiadas. Se observa para frijol de 5.26 a 8.13%, en nixtamal se presenta un rango de 1.26 a 1.47%, y para tortilla de 1.41 a 1.76% y con un promedio de 5.78% en frijol, 1.09% en nixtamal, y 1.27% en tortilla.

En un estudio realizado por Candela y cols, (1997) reporta 4.87% de cenizas para frijoles crudos y 5.65% para frijoles cocidos, de la misma manera presenta datos de cenizas en garbanzo y lentejas los cuales tienen un comportamiento similar, aumentando la cantidad una vez cocinados e indican que los alimentos pueden absorber minerales a través del agua o materiales de manejo. Mientras Díaz-Osorio y cols, (2003) reportan hasta 10.06% de cenizas en harinas de frijoles enlatados.

Mientras Flores y cols, (2002) reportan entre 1.2 a 1.5% de ceniza en harinas de maíz nixtamalizado y Figueroa y cols, (2001) indican 1.74% de cenizas para tortilla de maíz nixtamalizada, los cuales coinciden con Bressani y cols, (2001) quienes reportan en promedio 1.75% de cenizas en 12 harinas nixtamalizadas.

**Tabla 14.** Contenido de cenizas calculado en base seca

<b>Muestra</b>	<b>% de cenizas</b>
<b><i>Frijol</i></b>	
F1	7.40
F2	8.13
F3	7.43
F4	6.48
F5	5.26
<b><i>Nixtamal</i></b>	
M1	1.30
M2	1.26
M3	1.47
M4	1.42
<b><i>Tortilla</i></b>	
T1	1.41
T2	1.47
T3	1.62
T4	1.34
T5	1.76



**Figura 6.** Representación gráfica del contenido de cenizas

### 4.3 Contenido de proteína

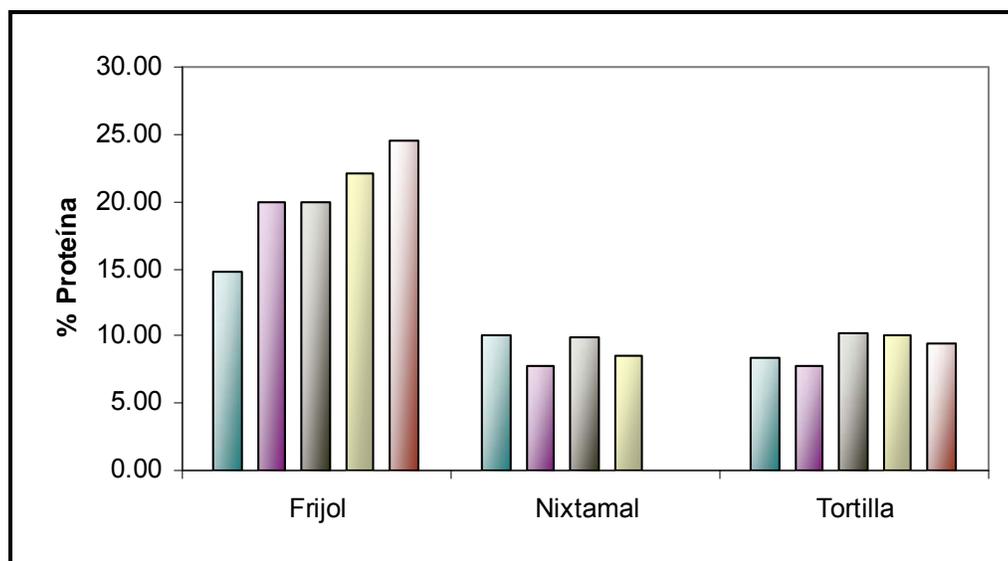
En la tabla 15 y figura 7, se presenta el contenido de proteínas en los alimentos seleccionados. La cantidad presente de proteína en las muestras estudiadas se encuentran en el rango de 14.50 a 23.93% para frijol, de 7.53 a 9.95% para nixtamal, y de 7.72 a 10.20% para tortilla. Con los valores promedio de 20.21%, 9.04% y 9.14% para frijol, nixtamal y tortilla respectivamente. El contenido de proteína en frijol, Candela y cols, (1997) citan que las legumbres en promedio contiene de un 16 a 20% de proteína y en su investigación reportan 28.16% para frijol, 23.66% en garbanzo y en lenteja 25.30%, en las legumbres una vez cocinadas. Mientras que Marconi y cols, (2000) reportan que el contenido en frijol crudo es 20.8% y que una vez cocido pierde 1.6% de proteína e indica que la calidad de cocción esta determinada por la cantidad de sólidos perdidos (materia seca, cenizas, y proteína) en el agua de cocción. Por lo tanto, los valores que se obtuvieron en este estudio se encuentran en el rango citado por los autores.

**Tabla 15.** Contenido de proteína calculada en base seca

<b>Muestra</b>	<b>% Proteína</b>
<b><i>Frijol</i></b>	
F1	14.84
F2	20.01
F3	19.92
F4	22.02
F5	24.56
<b><i>Nixtamal</i></b>	
M1	9.98
M2	7.77
M3	9.92
M4	8.50
<b><i>Tortilla</i></b>	
T1	8.37
T2	7.72
T3	10.20
T4	10.05
T5	9.38

Como se puede apreciar los contenidos de proteína son muy similares para las muestras de maíz nixtamalizado y tortillas, cabe mencionar que los maíces estudiados son blancos, a excepción de M2 que es una muestra de maíz rojo el cual presenta menor cantidad de proteína con respecto a los demás. Martín-Martínez y cols, (2003), mencionan que el severo tratamiento térmico-alcalino produce pérdidas de 8.5 a 12.5% de materia seca, conteniendo fracciones de pericarpio, almidón, proteína y germen, y que estas pérdidas incrementan con el uso de concentraciones altas de cal, temperaturas altas, y tiempos prolongados en la cocción. Figueroa y cols, (2001) reportan que en maíz antes de la nixtamalización su contenido de proteína es de  $8.84 \pm 0.33\%$ , en tortilla nixtamalizada de 6.99% y en una tortilla tradicional de 7.8 a 10.3%. Por lo tanto, los valores que se han obtenido de este estudio están en el rango, la diferencia que se alcanza apreciar consiste en que las

muestras de tortillas de maíz nixtamalizadas presentan menor cantidad que las elaboradas con harinas industrializadas, pero aún así es en mayor cantidad que el promedio que Bressani y cols, (2001) obtuvieron, en su trabajo de caracterización de harinas industriales nixtamalizadas donde reporta 7.76%.



**Figura 7.** Representación gráfica del contenido de proteína en base seca

#### 4.4 Cuantificación de tirosina y triptófano en muestras

##### 4.4.1 Preparación de la muestra

Para la determinación de la cantidad de muestra a utilizar en el análisis se realizaron ensayos previos, preparando soluciones a distintas concentraciones de la muestra (100 y 200 mg de muestra) en 25 ml de agua ácida, y posteriormente son sonificadas durante 2 min, seguido de una centrifugación, filtración, y finalmente fueron analizadas. De los resultados obtenidos se estableció la cantidad de muestra a utilizar, siendo 100 mg de muestra en 25 ml de agua ácida, pues se observaron los cromatogramas definidos y sin saturaciones, a diferencia de los resultados obtenidos con las muestras de 200 mg.

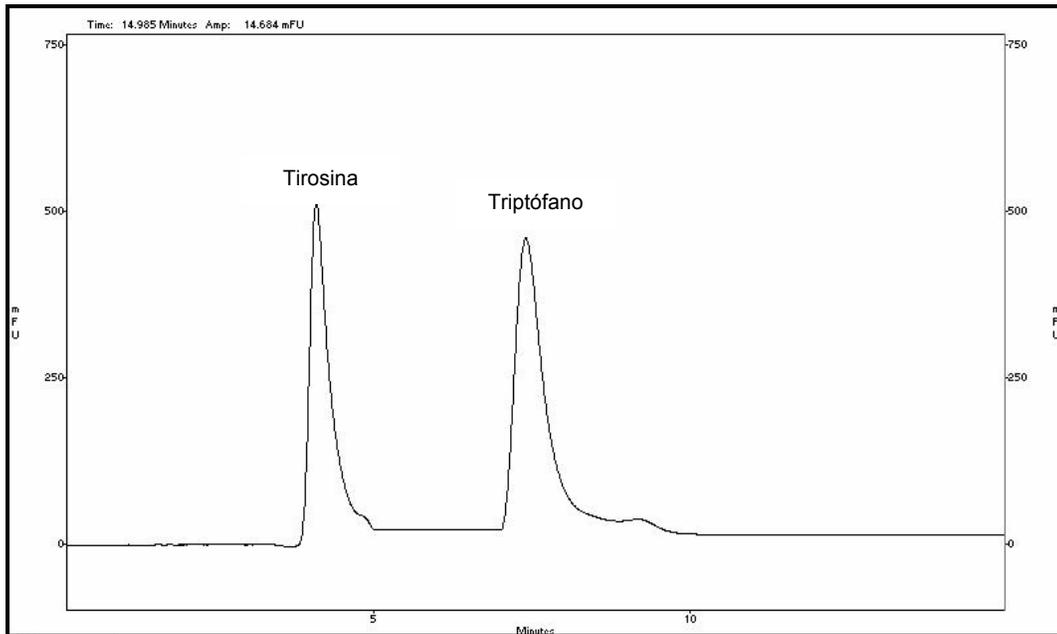
#### 4.4.2 Tiempo de retención

Se tomaron al azar 12 muestras para determinar el tiempo de retención promedio correspondiente a cada uno de los aminoácidos. Los valores están representados en la tabla 16 donde se muestra un promedio de 4.154 min para la tirosina y 7.606 min para el triptófano.

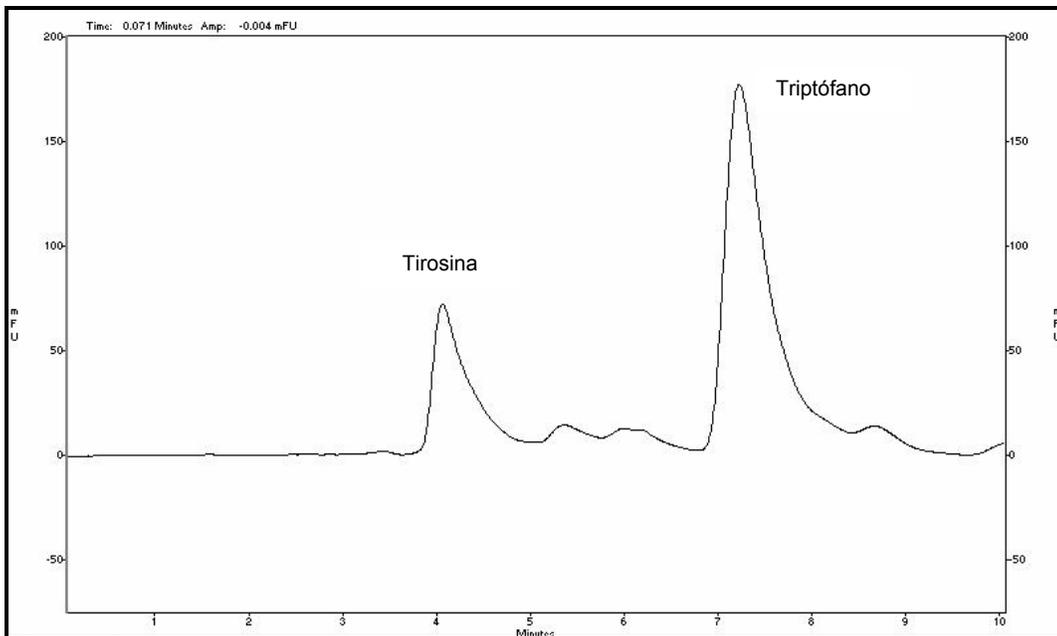
**Tabla 16.** Tiempo de retención de tirosina y triptófano

Tiempo de retención (minutos)	
Tirosina	Triptófano
4.167	7.617
4.150	7.592
4.158	7.600
4.150	7.592
4.150	7.600
4.152	7.600
4.150	7.608
4.157	7.617
4.158	7.592
4.158	7.608
4.150	7.625
4.150	7.617
Promedio 4.154 ± 0.005	7.606 ± 0.011

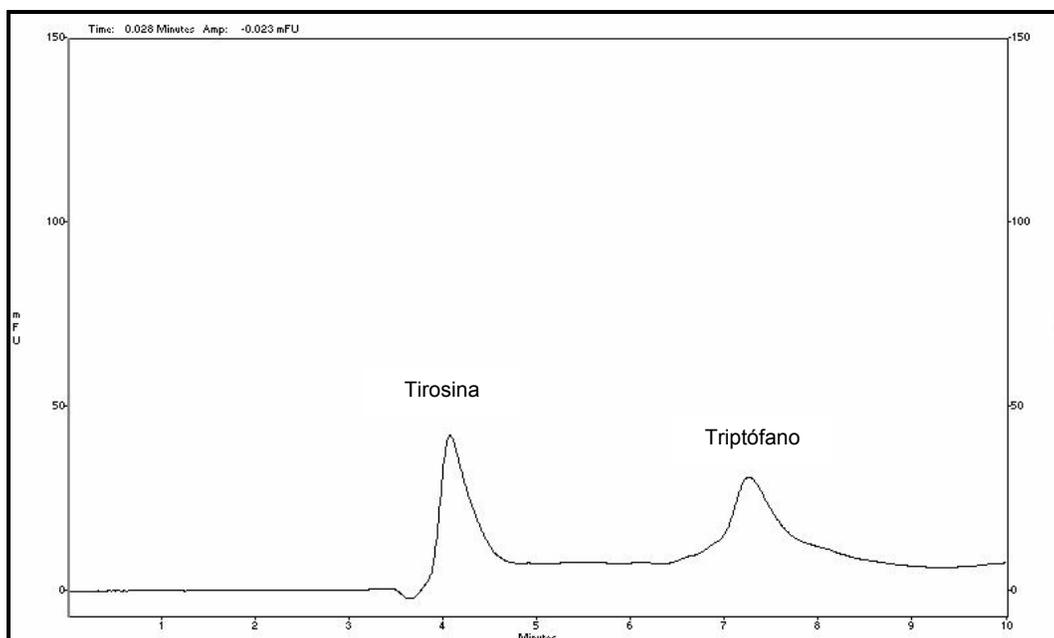
El tiempo de retención indica que alrededor de estos tiempos se ha de presentar el cromatograma del analito de interés, identificándolo con mayor facilidad, por lo tanto, según el comportamiento de los patrones, las muestras analizadas han de comportarse de manera similar. En la figura 8, se muestran los cromatogramas de los patrones, mientras que en la figura 9, 10, y 11 se presentan los cromatogramas que pertenecen a las muestras de frijol, nixtamal y tortilla, respectivamente, y se puede apreciar que se tienen comportamientos similares, en cuanto al tiempo en que se presentan, mas no en el área que muestra cada uno.



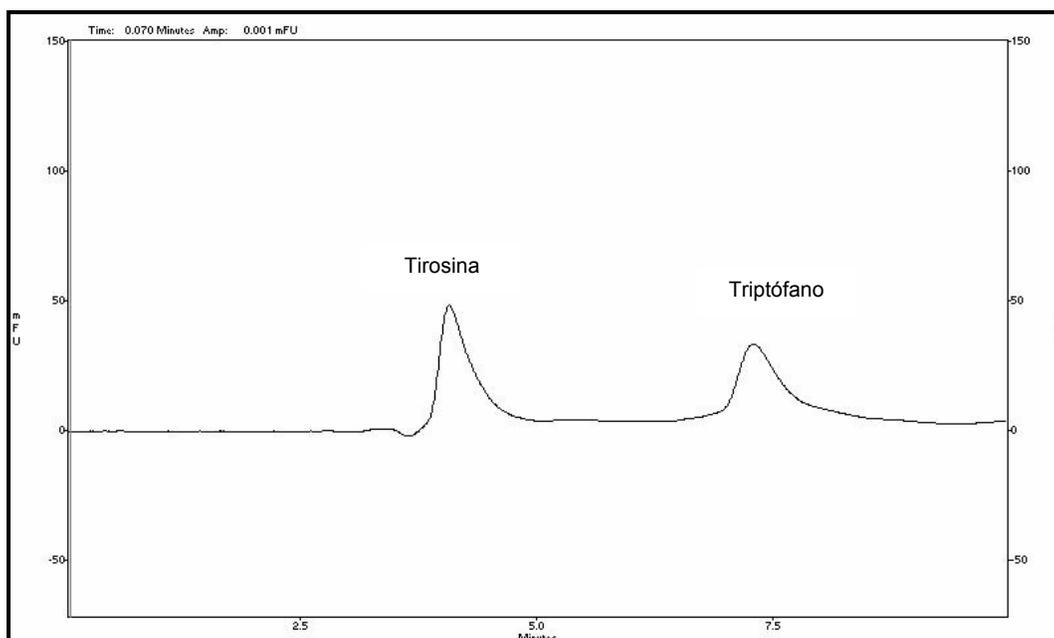
**Figura 8.** Cromatograma del patrón tirosina y triptófano



**Figura 9.** Cromatograma de tirosina y triptófano en muestra de frijol enlatado



**Figura 10.** Cromatograma de tirosina y triptófano en muestra de nixtamal



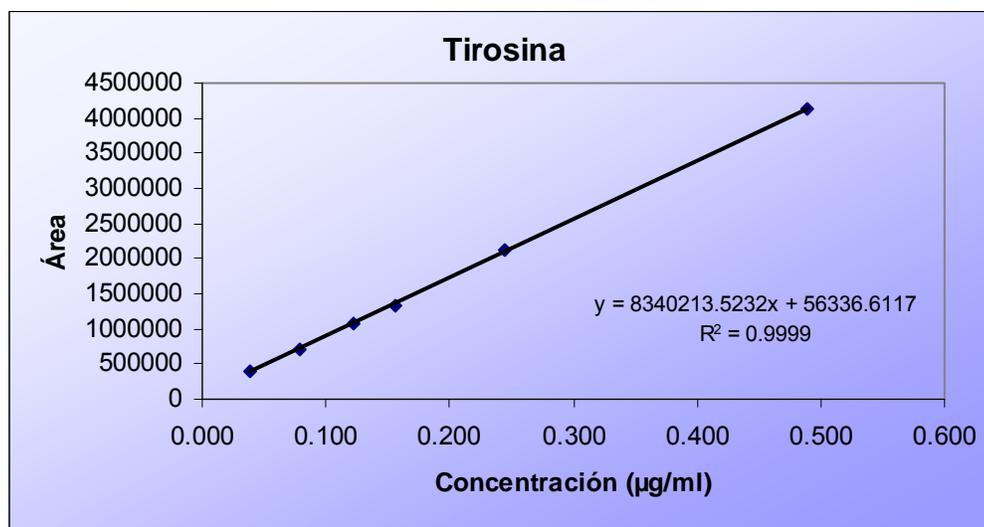
**Figura 11.** Cromatograma de tirosina y triptófano en tortilla

### 4.4.3 Linealidad

Las curvas de calibración fueron determinadas con 6 diferentes concentraciones de las muestras patrón de tirosina y triptófano, en tirosina van de 0.039 a 0.490 µg/ml en triptófano de 0.018 a 0.072 µg/ml, y se realizaron las inyecciones por duplicado. En la tabla 17 y figura 12 se muestran los datos de concentración y áreas de los picos del patrón para tirosina. La recta patrón obtenida fue satisfactoria ya que presentó un valor de  $r^2 = 0.9999$ .

**Tabla 17.** Recta patrón para tirosina

Patrón	Área 1	Área 2	Área promedio	Concentración µg/ml
1	423658	385843	404751	0.039
2	707992	703384	705688	0.078
3	1055611	1078656	1067134	0.122
4	1384813	1296709	1340761	0.157
5	2098516	2121570	2110043	0.245
6	4299886	3984564	4142225	0.490

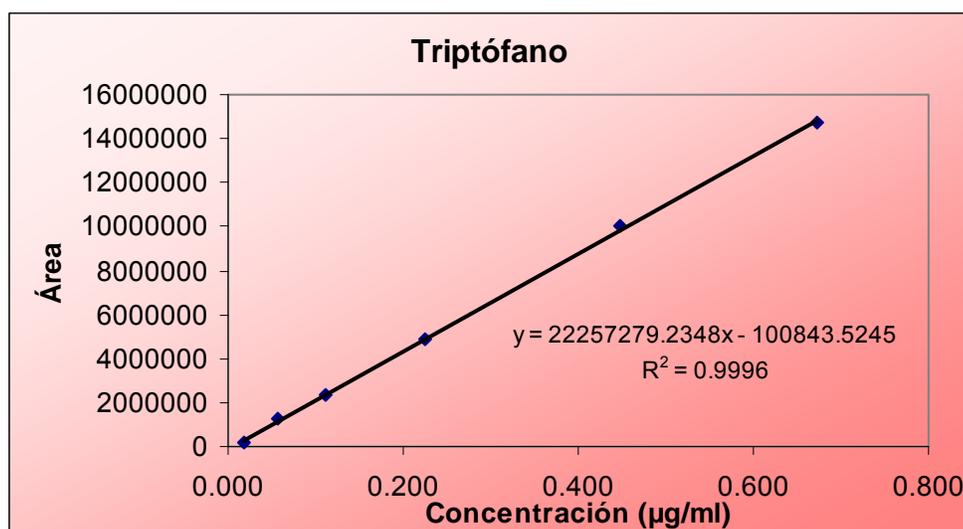


**Figura 12.** Recta patrón de tirosina

Para triptófano se procedió de igual forma, para la obtención de la recta patrón, teniendo como resultado un  $r^2 = 0.9996$ . Los datos de la recta se muestran en la tabla 18 y la gráfica en la figura 13.

**Tabla 18.** Recta patrón para triptófano

Patrón	Área 1	Área 2	Área promedio	Concentración $\mu\text{g/ml}$
1	194160	162521	178341	0.018
2	1254081	1275801	1264941	0.056
3	2465105	2260369	2362737	0.112
4	4960648	4761583	4861116	0.224
5	10329664	9694310	10011987	0.448
6	14937900	14597449	14767675	0.672



**Figura 13.** Recta patrón de triptófano

La representación gráfica de la recta de regresión en un sistema de coordenadas junto con los valores experimentales, permite la visualización del ajuste. La recta patrón en su expresión matemática es presentada como  $y = ax + b$ . Si la recta no pasa cerca del origen de coordenadas significa que el método a evaluar está afectado por un error sistemático por defecto o por exceso en el intervalo estudiado.

Si existen diferencias apreciables entre los valores experimentales y los puntos de la recta significa que la linealidad no es buena (existe falta de ajuste) o bien que el error experimental es importante.

El coeficiente de correlación indica el grado de relación entre la variable x y la variable y, su valor máximo es 1. Según la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, (2001), el valor recomendable para el coeficiente de correlación es  $\geq 0.999$ , aunque en caso de impurezas se admite  $\geq 0.990$ . Los resultados obtenidos en el análisis se presentan en la tabla 19 donde la linealidad del método es muy buena según los valores expresados.

**Tabla 19.** Datos de calibración del método para los patrones de tirosina y triptófano.

Aminoácido	Ecuación de calibración	Coeficiente de correlación ( $r^2$ )	Rango ( $\mu\text{g/ml}$ )
Tirosina	$y = 8340213x + 56336$	0.9999	0.039 - 0.490
Triptófano	$y = 22257279x - 100843$	0.9996	0.018 - 0.672

#### 4.4.4 Análisis de la muestra

El muestreo se llevó a cabo utilizando 5 muestras de frijol, 4 de nixtamal y 5 de tortillas, las cuales fueron secadas y pulverizadas para su posterior análisis. Cada una de las muestras se dividió en tres submuestras que se realizaron corridas por duplicado bajo las mismas condiciones establecidas en el método, identificando los aminoácidos de interés por comparación con el patrón. Los resultados están presentados en la tabla 20.

**Tabla 20.** Contenido de tirosina y triptófano libres en las muestras analizadas

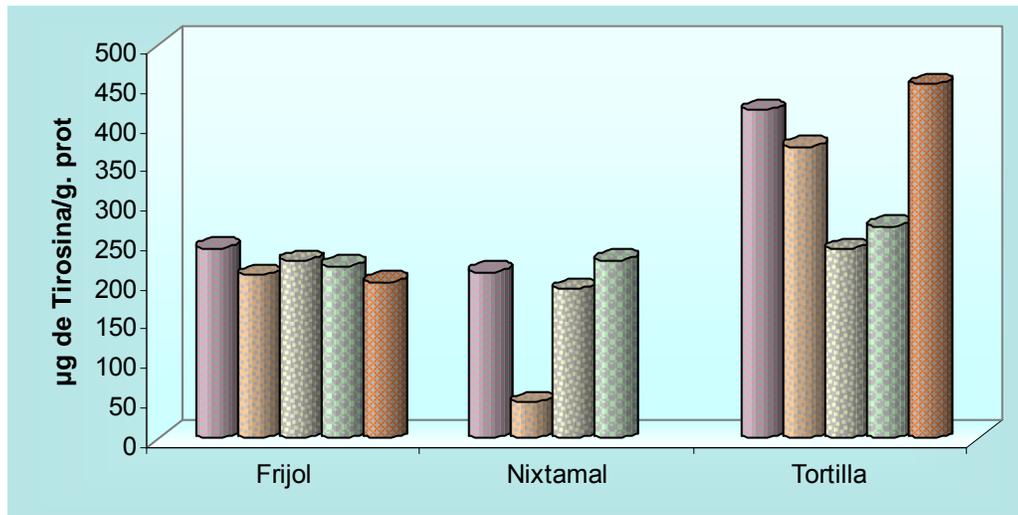
Alimento	Tirosina $\mu\text{g/g m. s.}$	Triptófano	Tirosina $\mu\text{g aa/g proteína}$	Triptófano
<b>Frijol*</b>				
F1	36.01	69.23	242.65	466.51
F2	41.57	88.38	207.75	441.68
F3	45.14	72.73	226.61	365.11
F4	48.42	65.74	219.89	298.55
F5	48.96	59.85	199.35	243.69
<b>Nixtamal*</b>				
M1	21.21	9.16	212.53	91.78
M2	3.53	1.54	45.43	19.82
M3	18.88	12.37	190.32	124.70
M4	19.29	3.35	226.94	39.41
<b>Tortilla*</b>				
T1	34.99	13.53	418.01	161.65
T2	28.67	9.31	371.35	120.60
T3	24.61	6.44	241.29	63.14
T4	27.15	11.58	270.12	115.22
T5	42.30	14.22	450.93	151.60

\* n = 3, por duplicado

En la figura 14 se muestra la gráfica de la concentración de tirosina presente en las diferentes muestras, para frijol se presenta un rango de 199.32 a 424.65  $\mu\text{g/g}$  proteína, para nixtamal los valores van desde 45.43 a 226.94  $\mu\text{g/g}$  proteína, mientras en tortilla de 228.76 a 450.96  $\mu\text{g/g}$  proteína. Con promedio de 219.25, 168.80 y 340.97  $\mu\text{g/g}$  proteína, en frijol, nixtamal y tortilla respectivamente.

En frijol se presentan cantidades semejantes entre sí, al contrario de las muestras de nixtamal y tortilla. Cabe mencionar que las muestras de nixtamal presentadas se obtuvieron del supermercado, y además la muestra de nixtamal 2 fue de un maíz rojo, la cual presentó en mucho menor cantidad tirosina, mientras que en el caso de las tortillas se emplearon dos muestras de una marca comercial conocida, dos más de tortillas preparadas con nixtamal, procedente de tortillerías y una más de otra marca comercial de harina de maíz, donde entre las muestras de tortillas de nixtamal

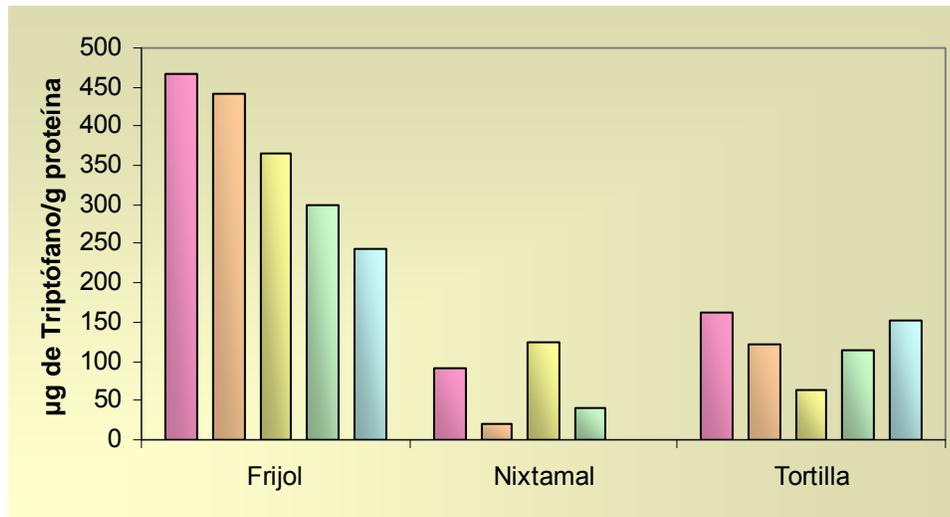
expresan valores semejantes, a diferencia de las que obtenidas a partir de harinas comerciales.



**Figura 14.** Gráfica del contenido de tirosina en las diferentes muestras

En cuanto al contenido de triptófano, en la figura 15, se muestran los datos expresados en una gráfica. Y en este caso se observa una gran diferencia en la cantidad que se presenta en frijol, en comparación con las otras muestras, ya que el frijol es una buena fuente de proteínas, Serrano y Goñi, (2004) mencionan que el tratamiento térmico tiene doble efecto en las leguminosas, como disminuir y eliminar la actividad de algunos factores antifisiológicos y por otro lado aumenta la disponibilidad de aminoácidos azufrados presentes en altas concentraciones en los inhibidores de tripsina, pero si el tratamiento térmico es excesivo puede disminuir la disponibilidad de algunos aminoácidos. También hay que tomar en cuenta que como mencionan Tandon y cols, (1957), el 27% de variación en la cantidad de aminoácidos se debe a la diferencia de genotipo, el 40% al efecto de la ubicación y el 20% a la interacción del genotipo con el medio ambiente, además un 13% se debe a otras causas.

En cuanto al maíz, además de contener menor cantidad de proteína al ser tratados con la solución limosa y la temperatura, en el proceso de nixtamalización, pueden perderse algunos componentes en el agua de lavado (Figuroa y cols, 2001).



**Figura 15.** Gráfica del contenido de triptófano en las diferentes muestras

Por último, cabe mencionar que estos aminoácidos, son esenciales y a su vez limitantes en estos alimentos, por lo tanto es necesario y de gran importancia su consumo.

## **V. CONCLUSIÓN**

En este trabajo se realizó un estudio sobre los productos de mayor consumo en nuestro país, ya que aportan aminoácidos esenciales tales como tirosina y triptófano al organismo de esta manera se encontró que el frijol contiene más triptófano que tirosina libre y en nixtamal y tortilla se presenta un comportamiento inverso.

En cuanto a la composición proximal, el frijol es el que muestra mayor cantidad tanto de cenizas como proteínas. La cantidad de cenizas en tortilla y nixtamal resultó muy parecida y baja con respecto a las del frijol.

Es necesario realizar este tipo de investigaciones para el enriquecimiento y fortificación de los alimentos que se consumen con mayor frecuencia y así obtener mejor calidad en los productos.

---

## BIBLIOGRAFÍA

AOAC, (1984). **Official Methods of Análisis of the Association of Official Analytical Chemist**. Edited by Sydney Williams. Fourteen edition. USA.

Antunes, P. L. and Sgarbieri, V. C. (1980). **Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*Phaseolus vulgaris* var. Rosinha G2) Proteins**. Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 28, No. 5, Pág. 935-938.

Allende-Arrás, G., Acero-Godínez, M. G., Padilla-Ramírez, J. S. y Mayek-Pérez, N. (2006). **Comportamiento agronómico y características fisicoquímicas del grano de frijol en Aguascalientes, México**. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 29, No. 001. Pág. 89-93.

Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.). (2001). **Validación de métodos analíticos**. Barcelona, España.

Arámbula, V. G., Barron, A. L., González, H. J., Moreno, M. E. y Luna, B. G. (2001). **Efecto del tiempo de cocimiento y reposo del grano de maíz (*Zea mays* L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas, reológicas, estructurales y texturales del grano, masa y tortillas de maíz**. Archivos Latino Americanos de Nutrición, Vol. 51, No.2, Pág. 187-194.

Badui, D. S. (1993a). **Química de los alimentos**. 3ª Edición. Editorial Pearson Educación. México.

Badui, D. S. (2006b). **Química de los alimentos**. 4ª Edición. Editorial Pearson Educación. México.

Billeb de Sinibaldi, A. y Bressani, R. (2001). **Características de cocción por nixtamalización de once variedades de maíz**. Archivos Latino Americanos de Nutrición, Vol. 51, No.1, Pág. 86-94.

Bressani, R., Paz y Paz, R. and Scrimshaw, N. S. (1958a). **Chemical changes in corn during preparation of tortillas**. Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 6, No. 10, Pág. 770-774.

Bressani, R., Turcios, J. C., Reyes, L., Mérida R. (2001b). **Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central**. Archivos Latino Americanos de Nutrición, Vol. 51, No.3, Pág. 309-313.

Bressani, R., Turcios, J. C., Colmenares, A. S. and Palacios, P. (2004c). **Effect of processing conditions on phytic acid, calcium, iron, and zinc contents of lime-**

**cooked maize.** Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 52, Pág. 1157-1162.

Brückner, H. and Westhauser, T. (2003). **Chromatographic determination of L- and D-amino acids in plants.** Amino Acids. Printed in Austria. Vol. 24, Pág. 45-55.

Candela, M., Astiasaran, C. and Bello, L. (1997). **Cooking and warm-holding: effect on general composition and amino acids of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*), Chickpeas (*Cicer arietinum*), and lentils (*Lens culinaris*).** Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 45, No. 12 Pág. 4763-4767.

Cela R., Rosa L., Casais M. (2002). **Técnicas de separación en química analítica.** Editorial Síntesis. España.

Charley, H. (1991). **Tecnología de alimentos. Procesos químicos y físicos en la preparación de los alimentos.** Editorial LIMUNSA. México

De la Campa, R., Millar. D. J. and Hendricks K. (2004). **Fumonisin in tortillas produced in small-scale facilities and effect of traditional masa production methods on this mycotoxin.** Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 52, Pág. 4432-4437.

Delhaye, S. and Landry, J. (1992). **Simplified procedure for the determination of tryptophan on foods and feedstuffs from barytic hydrolysis.** Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 40, Pág. 776-779.

Delhaye, S. and Landry, J. (1993). **Quantitative Determination of Tryptophan in food and feedstuffs: practical considerations on autoclaving samples for hydrolysis.** Journal of Agrochemical and Food Chemistry. Vol. 41, Pág. 1633-1634.

Desrosier, N. (1999). **Elementos de tecnología de alimentos**. Editorial CECSA. México.

Dickerson W. G. (2003). **Nutritional Analysis of New Mexico Blue Corn and Dent Corn Kernels**. Guide H-233. Cooperative Extension Service College of Agriculture and Home Economics. University New Mexico State.

Dombrink-Kurtzman, M. A., Dvorak, T. J., Barron, M. E. and Rooney L. W. (2000). **Effect of nixtamalization (Alkaline Cooking) on Fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortilla**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 48, Pág. 5781-5786.

Figuroa, C. J., Acero, G. M., Vasco, M. N., Lozano, G. A., Flores, A. L., y González-Hernández J. (2001). **Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal**. Archivos Latino Americanos de Nutrición. Vol 51, No.3, Pág. 293-302.

Flores, F. R., Martínez, B. F., Salinas, M. Y., Rios, E. (2002). **Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado**. Agrociencia. Vol. 36, No. 5, Pág. 557-567.

Friedman, M. and Cuq, J. (1988). **Chemistry, analysis, nutritional value, and toxicology of tryptophan in food. A review**. Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 36, Pág. 1079-1093.

González, R., Reguera, E., Mendoza, L., Figuroa, J. M. and Sánchez-Sinencio, F. (2004) **Physicochemical changes in the hull of corn grains during their alkaline cooking**. Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 52, Pág. 3831-3837.

Jacinto-Hernández, C., Hernández-Sánchez, H., Azpíroz-Rivero, H. S., Acosta-Gallegos, J. A. y Bernal-Lugo, I. (2002). **Caracterización de una población de**

**líneas endogámicas de frijol común por su calidad de cocción y algunos componentes nutrimentales.** Agrociencia. Vol 36, No. 4. Pág. 451-459.

Jean Adrian, Jacques Potus, Annie Poiffait, Pierre Dauvillier (2000). **Análisis nutricional de los alimentos.** Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España.

Jonson, M. M. (2004). **Using pinto beans.** Guide E-213. Bringing science to your life. Cooperative Extension Service College of Agriculture and Home Economics. University New Mexico State.

Karahadian, C. and Johnson, K. A. (1993). **Analysis of headspace volatiles and sensory characteristics of fresh corn tortillas made from fresh masa dough and spray dried masa flour.** Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 41, Pág. 791-799.

Marconi, E., Ruggeri, S., Coppelloni, M., Leonardi, D., and Carnovale, E. (2000). **Physicochemical, nutritional, and microstructural characteristics of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) following microwave cooking.** Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 48, No. 12, Pág. 5986-5994.

Martín-Martínez, E. S., Jaime-Fonseca, M. R., Martínez-Bustos, F. and Martínez-Montes, J. L. (2003). **Selective nixtamalization of fractions of maize grain (*Zea mays* L.) and their use in the preparation of instant tortilla flours analysed using response surface methodology.** American Association of cereal chemists. Inc. Vol 58, No. 1, Pág. 13-19.

Mbithi-Mwikya, S., Ooghe, W., Van, C. J., Ngundi, D. and Huyghebaert, A. (2000). **Amino acid profiles after sprouting, autoclaving, and lactic acid fermentation of finger millet (*Eleusine Coracan*) and kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.)** Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 48, No. 12, Pág. 3081-3085.

Meyer, K., Steinhart, H. and Vollmar, M. (1995). **Development of a mathematical model for estimation of the tryptophan content in peptides.** Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 43, No. 9, Pág. 2317-2320.

Osborne y Voogt (1986). **Análisis de los nutrientes de los alimentos.** Editorial Acribia. Zaragoza España.

Osorio-Díaz, P., Méndez-Montealvo, G., Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J., Sánchez-Muñoz, J. y Bello-Pérez, L. (2003). **Biodisponibilidad del almidón en dos variedades comerciales de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y en frijoles industrializados.** Agrociencia. Vol 37, No. 6, Pág. 565-573.

Oudh, B. T., Bressani, R. and Scrimshaw, N. S. (1957). **Nutrients in central american beans.** Agricultural and Food Chemistry. Vol. 5, No. 2, Pág. 137-142.

Parsons B. (1990). **Frijol y Chícharo.** Manuales para educación agropecuaria. Producción vegetal. 2<sup>a</sup> ed. Trillas SEP, México.

Pearson, D. (1998). **Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos.** Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Piombo, G. and Lozano, F. (1980). **Automated procedure for routine analysis of tryptophan in cereal and legume food samples.** Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 28, Pág. 489-496.

Rangel-Meza, E., Muñoz, O. A., Vázquez-Carrillo, G., Cuevas-Sánchez, J., Merino-Castillo, J., Miranda-Colín, S. (2004). **Nixtamalización, elaboración y calidad de tortilla de maíces de Ecatlán, Puebla, México.** Agrociencia. Vol 38, No.1. Pág. 53-61.

Reyes, C. P. (1990). **El maíz y su cultivo**. Editorial Rockport publishers, INC. México

Reyes-Moreno, C. and Paredes-López, O. (1993). **Hard to cook phenomenon in common beans. A review**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 33, No. 3, Pág. 227-286.

Robles, S. R. (1981). **Producción de granos y forrajes**. 2ª ed. editorial LIMUSA México. Pág 17 y 27.

Sáyago-Ayerdi, S. G., Tovar, J., Osorio-Díaz, P., Paredes-López, O., and Bello-Pérez, L. A. (2005). **In vitro starch digestibility and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans, and tortilla-bean mixture: effect of copld storage**. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 53, Pág. 1281-1285.

Serrano, J. y Goñi, I. (2004). **Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca**. Archivos Lationoamericanos de Nutrición. Vol 54, No. 1. Pág. 36-44.

Skoog D, Holler F.J, Nieman T.A. (2001). **Principios de analisis instrumental**. Ed. Mac Graw Hill. España. 5ta edición.

Shamah, L. T., Avila, C. A., Cuevas, N. L., Chávez, V. A., Ávila, A. M., Fernández, M. C. (2003). **El subsidio a la tortilla en México: ¿un programa nutricional o económico?**. Archivos Latino Americanos de Nutrición. Vol 53, No.1, Pág. 5-13.

Tandon, O., Bressani, R., and Scrimshaw, N. (1957). **Nutrients in Central American Beans**. Agricultural and Food Chemenstry. Vol 5. No. 2. Pág 137-142.

Wathelet, B. (1999). **Nutricional analices for proteins and amino acid in beans (*Phaseolus sp.*)**. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Vol 3, No. 4, Pág 197-200.

Wu., F. and Tanoue, E. (2001). **Sensitive determination of dissolved tryptophan in freshwater by alkaline hydrolysis and HPLC.** The Japan Society for Analytical Chemistry. Vol. 17, Pág. 1063-1066.

Wu., W., Williams, W. P., Kunkel, M. E., Acton, J. C., Huang, Y., Wardlaw, F. B. and Grimes L. W. (1996). **Amino acid availability-corrected amino acid score of red kidney beans (*Phaseolous vulgaris* L.).** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 44, Pág. 1296-1301.

Zarkadas, C. G., Hamilton, R. I., Ran, Y. Z., Choi, V. K., Khanizadeh, S., Rose, N. G. and Pattison, P. L. (2000). **Assessment of the protein quality of 15 new northern adapted cultivars of quality protein maize using amino acid analysis.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol 48, Pág. 5351-5361.

Acosta-Gallegos, J. A. y Pérez, H. P. (2006). **Situación del cultivo de frijol común en México. Producción e investigación.** Programa de frijol del INIFAP, Chapingo, Edo. de México. <http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/seriedocumentos/anais/palestras/mesa1a.pdf>

Figuenbaum, H y P. Mouant. (2006). **Biología de cultivos anuales.** Facultad de agronomía e ingeniería forestal, pontificia universidad canonica de Chile. [http://www.puc.cl/sw\\_educ/cultivos/index2.htm](http://www.puc.cl/sw_educ/cultivos/index2.htm)

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP). (1995) México: Informe nacional para la conferencia técnica internacional de la FAO sobre los recursos fitogenéticos (Leipzig, 1996) México, DF. <http://www.fao.org/AG/agp/AGPS/Pgrfa/pdf/mexico.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (ONUAA). (1993). **El maíz en la nutrición humana.** Colección FAO, Alimentación y nutrición, No. 25. Roma, Italia. <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S00.htm>

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (ONUAA). (2001). **El maíz en Los trópicos: Manejo y producción**. Colección FAO: Protección y producción vegetal, No. 28. Roma, Italia  
[http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s04.htm#P0\\_0](http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s04.htm#P0_0)

Soriano, B. E., (2006). **El uso del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) como planta medicinal**. Tlahui-Medic. No. 21, I  
<http://www.tlahui.com/medic/medic21/frijol.htm>