

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



DESARROLLO DE TORTILLAS DE MAÍZ FORTIFICADAS CON FUENTES DE  
PROTEÍNA Y FIBRA Y SU EFECTO BIOLÓGICO EN UN MODELO ANIMAL

TESIS

Presentada por

M.C. JESÚS ALBERTO VÁZQUEZ RODRÍGUEZ

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN EN ALIMENTOS

MONTERREY, N.L.

AGOSTO DE 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**DESARROLLO DE TORTILLAS DE MAÍZ FORTIFICADAS CON FUENTES DE  
PROTEÍNA Y FIBRA Y SU EFECTO BIOLÓGICO EN UN MODELO ANIMAL**

**TESIS**

Presentada por

**M.C. JESÚS ALBERTO VÁZQUEZ RODRÍGUEZ**

**COMISIÓN DE TESIS**

---

**Dr. Carlos Abel Amaya Guerra**  
**DIRECTOR**

---

**Dra. Ma. Guadalupe de J. Alanís Guzmán.**  
**SECRETARIO**

---

**Dr. Jesús Montemayor Leal.**  
**1º VOCAL**

---

**Dra. Ma. Adriana Núñez González.**  
**2º VOCAL**

---

**Dr. Juan Gabriel Báez González.**  
**3º VOCAL**

MONTERREY, N.L., MÉXICO

AGOSTO DE 2013

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Gloria y Gerardo, por brindarme la mejor herencia que se puede dejar a un hijo: educación. Mil gracias por todo.

A mis hermanos, por apoyarme de una u otra manera en el desarrollo de esta tesis. Gracias.

A mis amigos más cercanos. Ustedes saben quiénes son. Gracias por soportar horas de pláticas y quejas sobre un tema que no les compete.

Gracias a todos.

Sin ustedes no sería quien soy.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al grupo Gruma®, especialmente al Dr. Fernando Rodríguez, por su colaboración y apoyo al desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas, por el apoyo técnico y científico brindado en el CINVESTAV, Unidad Querétaro.

Al laboratorio y Departamento de Alimentos de la FCB, UANL por brindar sus instalaciones para la realización del proyecto.

A mi asesor, el Dr. Carlos Abel Amaya Guerra, que con su paciencia infinita ayudó en el desarrollo de este proyecto.

Sin su ayuda este proyecto no sería el que es.

## RESUMEN

La nutrición es el proceso a través del cual el organismo obtiene de los alimentos la energía y los nutrimentos necesarios para el sostenimiento de las funciones vitales y de la salud. La ingestión inadecuada de alimentos en cantidad o calidad ocasiona una mala nutrición, asociada a fallas en el funcionamiento del organismo. Debido a esto, la nutrición es uno de los principales determinantes en el proceso salud-enfermedad. En el presente estudio, se analizaron los efectos fisicoquímicos y biológicos causados por la fortificación proteica y de fibra dietética en tortillas de maíz nixtamalizado. Se realizaron 2 grupos de formulaciones a) tortillas fortificadas con harina frijol y amaranto, 3F7A, 5F5A, 7F3A (fortificación proteica) y b) tortillas fortificadas con harina de nopal y alga 3N7AL, 5N5AL, 7N3AL (fortificación con fibra dietética). A ambos grupos se les realizaron análisis bromatológicos, polifenoles y actividad antioxidante; un estudio reológico y textural comprendido por textura, fuerza de corte, distancia de ruptura, pruebas de gelatinización, viscosidad y rolabilidad; un análisis sensorial basado en una escala hedónica, además de un estudio de vida de anaquel. El grupo a) obtuvo un aumento significativo de proteína rica en lisina y triptófano, principalmente 3F7A, sin incrementar significativamente polifenoles y actividad antioxidante. El grupo b) aumentó hasta un 30% de fibra dietética, principalmente 3N7AL (10 veces más fibra soluble). Este grupo aumentó significativamente polifenoles y actividad antioxidante, más su efecto no perduró tras el tratamiento térmico. Ambos grupos presentaron características similares, reológica y texturalmente, respecto al control de tortilla regular. Sensorialmente, las mejores aceptadas fueron a) 3F7A y b) 5N5AL. La vida de anaquel, tanto para a) como para b), fue de 3 días a temperatura ambiente. Finalmente, se realizaron estudios *in vivo* con ratas Wistar alimentadas *ad libitum*; a) bioensayo de 2 generaciones para evaluar el efecto de la fortificación sobre el crecimiento y desarrollo y b) bioensayo con ratas adultas, evaluando un efecto positivo de la fortificación en la reducción de colesterol, triglicéridos totales y glucosa. En el bioensayo a) se observó un efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de ratas Wistar, en ambos ciclos generacionales, presentando 3F7A resultados similares al control de caseína en la 1<sup>o</sup> generación. En el bioensayo b), las ratas alimentadas con 3N7AL presentaron un efecto positivo en la disminución de glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre. Con estos resultados, se recomienda tanto 3F7A como 3N7AL a manera de alternativas de tortilla fortificada, debido a su adecuado desempeño tecnológico y biológico, a) aumentando la cantidad y calidad de proteína de la tortilla y b) siendo un vehículo de fibra dietética de alto alcance.

## ABSTRACT

Nutrition is the process by the body gets energy and nutrients from foods; this by sustain vital functions and health. Inadequate food intake in quantity or quality results in poor nutrition associated with malfunctions and diseases from body. Because of this, nutrition is a major determinant in the health-disease process. In the present study, we analyzed the physicochemical and biological effects caused by protein fortification and dietary fiber in corn tortillas nixtamalized. There were 2 groups of formulations a) fortified tortillas with beans and amaranth flour, 3F7A, 5F5A, 7F3A (fortification protein) and b) fortified tortillas with nopal and seaweed flour, 3N7AL, 5N5AL, 7N3AL (dietary fiber fortification). Both groups were chemical analyzes, polyphenols and antioxidant activity, one study comprised rheological and textural: texture, cutting force, breaking distance; gelatinization, viscosity and rolability, sensory analysis based on a hedonic scale, and a shelf life study. The group a) received a significant increase in protein rich in lysine and tryptophan, mainly 3F7A, without significantly increasing polyphenols and antioxidant activity. The group b) increased up to 30% dietary fiber, mainly 3N7AL (10 times more soluble fiber). This group was significantly increased polyphenol antioxidant activity lasted no more effect after the heat treatment. Both groups had similar characteristics, rheological and textural, regarding the control of regular tortilla. Sensory, best accepted were a) 3F7A b) 5N5AL. Shelf life both for a) and for b) was 3 days at room temperature. Finally, two *in vivo* studies were realized; both with Wistar rats fed *ad libitum* a) 2 generations bioassay to evaluate the effect of fortification on growth and development b) adult rats bioassay, evaluating a positive effect in reducing the fortification cholesterol, total triglyceride and glucose. In the bioassay a) showed a positive effect on the growth and development of Wistar rats in both cycles generational. 3F7A presenting similar results to the control of casein in generation 1. In the bioassay b) 3N7AL fed rats showed a positive effect in lowering glucose, triglycerides and blood cholesterol. With these results, it is recommended 3F7A and 3N7AL as an alternative way of fortified tortillas because of their technological and biological proper performance, a) increasing the quantity and quality of protein of tortillas and b) being a vehicle of reaching high dietary fiber.

## ÍNDICE

	Página
<b>DEDICATORIA</b>	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	<b>II</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>X</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	<b>XII</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN</b>	<b>3</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	<b>4</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>5</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>6</b>
<b>El maíz (<i>Zea mays</i>)</b>	<b>6</b>
<b>Historia y orígenes del cultivo</b>	<b>6</b>
<b>Clasificación del maíz</b>	<b>7</b>
<b>La planta de maíz</b>	<b>7</b>
<b>El grano de maíz</b>	<b>8</b>
<b>El maíz como fuente principal de nutrientes en México</b>	<b>11</b>
<b>Proceso de nixtamalización</b>	<b>12</b>
<b>Cambios nutrimentales durante la nixtamalización</b>	<b>14</b>
<b>Elaboración de tortillas de maíz</b>	<b>16</b>
<b>Elaboración artesanal</b>	<b>16</b>
<b>Elaboración industrial</b>	<b>17</b>
<b>Fortificación de tortillas de maíz</b>	<b>18</b>
<b>Desnutrición</b>	<b>20</b>
<b>Panorama general</b>	<b>20</b>
<b>Desnutrición proteínica</b>	<b>21</b>
<b>El papel de la fibra dietética en la dieta</b>	<b>23</b>
<b>Clasificación</b>	<b>24</b>
<b>Efectos sobre el organismo</b>	<b>25</b>
<b>Acción sobre lípidos séricos y colesterol</b>	<b>25</b>
<b>Diabetes y fibra dietética</b>	<b>26</b>
<b>La desnutrición en México</b>	<b>26</b>
<b>Fuentes alternativas de nutrientes para disminuir la desnutrición en México</b>	<b>28</b>
<b>Fuentes de proteína</b>	<b>29</b>
<b>Amaranto (<i>Amaranthus spp</i>)</b>	<b>29</b>
<b>Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)</b>	<b>33</b>
<b>Fuentes de fibra dietética</b>	<b>36</b>
<b>Nopal (<i>Opuntia ficus-indica</i>).</b>	<b>36</b>

Alga ( <i>Ulva clathrata</i> )	39
<b>ESTRATEGIA EXPERIMENTAL</b>	<b>42</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODO</b>	<b>46</b>
Materiales de estudio.	46
Formulación de harinas fortificadas.	46
Elaboración de tortillas.	46
Análisis fisicoquímico.	47
Determinación de humedad.	47
Determinación de proteína.	47
Determinación de grasa.	48
Determinación de cenizas.	48
Determinación de fibra dietética.	48
Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno.	48
Determinación de Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante.	48
Polifenoles totales.	49
Determinación de capacidad antioxidante.	49
Análisis reológico y textural de masas y tortillas.	50
Color.	50
Rendimiento de masas.	50
Reología de masas y Textura de tortillas.	51
Índice de absorción de agua e índice de solubilidad en agua.	51
Viscosidad.	52
Entalpía de gelatinización.	52
Análisis sensorial.	52
Vida de anaquel.	52
Bioensayos.	52
Determinación de energía metabolizable.	54
Determinación de aminoácidos.	55
Estudio metabólico.	55
Glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre.	56
Análisis estadístico.	56
<b>CAPÍTULO 1 FORMULACIÓN Y DESARROLLO DE TORTILLAS FORTIFICADAS</b>	<b>57</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>58</b>
Análisis de materias primas	58
Análisis de harinas y masas	65
Propiedades de color en harinas y tortillas	65
Rendimiento y reología de masas	67
Propiedades térmicas de masas	71
Propiedades de textura de tortillas	75
Polifenoles totales y actividad antioxidante	78
<b>CAPITULO 2 EVALUACIÓN SENSORIAL Y VIDA ÚTIL DE TORTILLAS FORTIFICADAS</b>	<b>85</b>

<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>86</b>
<b>Evaluación sensorial de tortillas y vida de anaquel.</b>	<b>86</b>
<b>CAPÍTULO 3 EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE TORTILLAS FORTIFICADAS</b>	<b>94</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>95</b>
<b>Evaluación biológica de fortificación con proteína</b>	<b>95</b>
<b>Estudio de crecimiento</b>	<b>98</b>
<b>Estudio de desempeño reproductivo</b>	<b>104</b>
<b>Evaluación biológica de la fortificación con fibra dietética</b>	<b>107</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>115</b>
<b>Capítulo 1</b>	<b>115</b>
<b>Capítulo 2</b>	<b>116</b>
<b>Capítulo 3</b>	<b>117</b>
<b>Recomendaciones</b>	<b>118</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>119</b>
<b>LITERATURA CITADA</b>	<b>126</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1. Composición química proximal de las partes anatómicas principales de los granos de maíz en base seca.</b>	<b>9</b>
<b>Tabla 2. Composición química proximal de la semilla del amaranto (<i>Amaranthus</i> spp) en base seca.</b>	<b>31</b>
<b>Tabla. 3. Contenido de aminoácidos esenciales en la proteína de grano de amaranto (<i>Amaranthus</i> spp).</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 4. Composición química proximal de la harina del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>).</b>	<b>35</b>
<b>Tabla 5. Composición química de cladodios de <i>Opuntia ficus-indica</i> de distintas edades (porcentaje materia seca).</b>	<b>38</b>
<b>Tabla 6. Composición química proximal de la harina de <i>Ulva clathrata</i>.</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 7. Grupo de formulaciones de harinas de maíz nixtamalizado fortificadas con diferentes proporciones de harina de frijol y amaranto (ricas en proteína) y nopal y alga (ricas en fibra dietética).</b>	<b>47</b>
<b>Tabla 8. Tratamientos que se utilizarán en los ensayos biológicos para ratas de laboratorio.</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 9. Ingredientes a utilizar para la elaboración de dieta control basada en caseína (Bieri, 1980).</b>	<b>53</b>
<b>Tabla 10. Análisis bromatológico (base seca) de las harinas de amaranto, frijol y harina comercial de maíz nixtamalizado utilizadas en la investigación.</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 11. Aminograma de las harinas de amaranto, frijol y harina comercial de maíz nixtamalizado utilizadas en la investigación.</b>	<b>59</b>
<b>Tabla 12. Análisis bromatológico (base seca) y cuantificación de lisina, triptófano, fibra insoluble y soluble de formulaciones de tortilla fortificada con harinas de frijol y amaranto.</b>	<b>60</b>
<b>Tabla 13. Análisis bromatológico (base seca) harinas de alga y nopal y de harina comercial de maíz nixtamalizado utilizados en la investigación.</b>	<b>61</b>
<b>Tabla 14. Aminogramas de harinas de alga y nopal y de harina comercial de maíz nixtamalizado utilizados en la investigación.</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 15. Análisis bromatológico (base seca) y cuantificación de lisina, triptófano, fibra insoluble y soluble de formulaciones de tortilla fortificada con harinas de nopal y alga.</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 16. Análisis de color a formulaciones de harina y tortilla de tortilla fortificada con frijol y amaranto.</b>	<b>66</b>
<b>Tabla 17. Análisis de color a formulaciones de harina y tortilla fortificada con nopal y alga.</b>	<b>66</b>
<b>Tabla 18. Análisis de rendimiento de masas de formulaciones de harina de tortilla fortificada con frijol y amaranto, respecto a masa de maíz nixtamalizado (TR).</b>	<b>67</b>
<b>Tabla No. 19. Análisis de rendimiento de masas de formulaciones de harina de tortilla fortificada con nopal y alga, respecto a masa de maíz nixtamalizado (TR).</b>	<b>67</b>
<b>Tabla No. 20. Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad de agua (ISA) y adhesión - cohesión para harinas de maíz fortificado con</b>	

harinas de frijol y amaranto respecto a un control de maíz nixtamalizado (TR).	68
Tabla No. 21. Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad de agua (ISA) y adhesión - cohesión para harinas de maíz fortificado con harinas nopal y alga respecto a un control de maíz nixtamalizado (TR).	68
Tabla 22. Temperaturas de gelatinización inicial y final y entalpía de gelatinización de formulaciones de harina de maíz fortificada con frijol y amaranto con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado.	73
Tabla No. 23. Temperaturas de gelatinización inicial y final y entalpía de gelatinización de formulaciones de harina de maíz fortificada con nopal y alga con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado.	73
Tabla 24. Análisis de fuerza de tensión, y corte, distancia de ruptura y rolabilidad subjetiva de formulaciones de tortillas fortificadas con frijol y amaranto con respecto a tortillas de harina comercial de maíz nixtamalizado.	76
Tabla 25. Análisis de fuerza de tensión y corte de formulaciones de tortillas fortificadas con nopal y alga con respecto a tortillas de harina comercial de maíz nixtamalizado.	76
Tabla 26. Concentración de polifenoles totales en harinas y tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones.	78
Tabla 27. Actividad antioxidante ABTS ( $\mu\text{mol/kg}$ ) de harinas y tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones.	79
Tabla 28. Concentración de polifenoles totales en harinas y tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.	80
Tabla 29. Actividad antioxidante ABTS ( $\mu\text{mol/Kg}$ ) de harinas y tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.	81
Tabla 30. Composición química de las dietas a base de maíz nixtamalizado fortificadas con frijol y amaranto utilizadas en un bioensayo de 2 generaciones.	96
Tabla 31. Cantidades de lisina (Lys) y triptófano (Trp) de dietas experimentales a base de harina de maíz nixtamalizado fortificada con harina de amaranto y frijol en 3 diferentes proporciones.	96
Tabla 32.- Comparación entre el crecimiento de ratas de primera y segunda generación alimentadas con dietas basadas en tortillas regulares y fortificadas con harina de frijol y amaranto.	98
Tabla 33.Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en valores de digestibilidad y retención de nitrógeno de las ratas de la 1° generación.	101
Tabla 34. Toma de peso al nacer, a los 21 días de nacida y porcentaje de sobrevivencia de crías de la 1° generación.	105
Tabla 35. Composición química de las dietas utilizadas en el bioensayo con ratas adultas.	107
Tabla 36. Cantidades de lisina (Lys), triptófano (Trp) y fibra dietética de dietas experimentales a base de harina de maíz nixtamalizado fortificada con harina de alga y nopal en 3 diferentes proporciones.	108
Tabla 37.- Comparación entre el crecimiento de ratas alimentadas con dietas basadas en tortillas regulares y fortificadas con harina de nopal y alga.	109

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig 1. Morfología de la planta de maíz (izquierda) (Doebley 2003).</b>	<b>8</b>
<b>Fig. 2. Estructura del grano de maíz: corte longitudinal (FAO, 2008).</b>	<b>10</b>
<b>Fig 3. Proceso de nixtamalización tradicional (Serna et. al., 1993).</b>	<b>13</b>
<b>Fig 4. Etapa 1. Formulación y desarrollo de tortillas fortificadas.</b>	<b>43</b>
<b>Fig 5. Etapa 2. Evaluación sensorial y vida útil de tortillas fortificadas.</b>	<b>44</b>
<b>Fig 6. Etapa 3. Evaluación biológica de tortillas fortificadas.</b>	<b>45</b>
<b>Fig.7. Análisis de viscosidad de formulaciones de harina de maíz fortificada con diferentes proporciones de frijol y amaranto (7F3A, 5F5A, 3F7A) con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado (TR).</b>	<b>72</b>
<b>Fig. 8. Análisis de viscosidad de formulaciones de harina de maíz fortificada con diferentes proporciones de nopal y alga (7N3AL, 5N5AL, 3N7AL) con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado (TR).</b>	<b>73</b>
<b>Fig 9. Escala hedónica para los tratamientos de tortilla fortificada con harina de frijol y amaranto a 3 diferentes concentraciones (1. Me es muy desagradable, 2. Me desagrada mucho, 3. Me desagrada, 4.Me desagrada un poco, 5. Me es indiferente, 6. Me gusta un poco, 7. Me gusta, 8. Me gusta mucho, 9. Me es muy agradable).</b>	<b>87</b>
<b>Fig 10. Escala hedónica para los tratamientos de tortilla fortificada con harina de nopal y alga a 3 diferentes concentraciones (1. Me es muy desagradable, 2. Me desagrada mucho, 3. Me desagrada, 4.Me desagrada un poco, 5. Me es indiferente, 6. Me gusta un poco, 7. Me gusta, 8. Me gusta mucho, 9. Me es muy agradable).</b>	<b>87</b>
<b>Fig.11. Cinética de rolabilidad de tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de 22°C + 2 (Promedio de 15 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes (p&lt;0.05)).</b>	<b>89</b>
<b>Fig 12. Cinética de humedad de tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de 22°C + 2 (Promedio de 5 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes (p&lt;0.05)).</b>	<b>90</b>
<b>Fig 13. Cinética de rolabilidad de tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de 22°C + 2 (Promedio de 15 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes (p&lt;0.05)).</b>	<b>90</b>
<b>Fig.14. Cinética de humedad de tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de 22°C + 2 (Promedio de 5 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes (p&lt;0.05)).</b>	<b>91</b>
<b>Fig 15. Cinética de glucosa en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.</b>	<b>110</b>
<b>Fig.16. Cinética de triglicéridos totales en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes</b>	

<b>concentraciones.</b>	<b>111</b>
<b>Fig 17. Cinética de colesterol en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.</b>	<b>111</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>3F7A</b>	<b>3%frijol, 7% amaranto</b>
<b>3N7AL</b>	<b>3%nopal, 7% alga</b>
<b>5F5A</b>	<b>5%frijol, 5% amaranto</b>
<b>5N5AL</b>	<b>5%nopal, 5% alga</b>
<b>7F3A</b>	<b>7%frijol, 3% amaranto</b>
<b>7N3AL</b>	<b>7%nopal, 3% alga</b>
<b>a*</b>	<b>De verde a rojo</b>
<b>ABTS</b>	<b>2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)</b>
<b>AOAC</b>	<b>Association of Official Analytical Chemists</b>
<b>b*</b>	<b>De azul a amarillo</b>
<b>CA</b>	<b>Consume de alimento</b>
<b>CAA</b>	<b>Capacidad de absorción de agua</b>
<b>CAS</b>	<b>Dieta con 10% de caseína</b>
<b>CMC</b>	<b>Carboximetilcelulosa</b>
<b>cP</b>	<b>centiPoints</b>
<b>CP</b>	<b>Consumo de proteína</b>
<b>DA</b>	<b>Digestibilidad aparente</b>
<b>ΔH</b>	<b>Entalpía</b>
<b>dL</b>	<b>decilitros</b>
<b>DPPH</b>	<b>di(fenil)-(2,4,6-trinitrofenil)iminoazanio</b>
<b>DSC</b>	<b>Calorimetría diferencial de barrido</b>
<b>ΔW</b>	<b>Cambio de peso</b>
<b>ELN</b>	<b>Extracto libre de nitrógeno</b>
<b>EM</b>	<b>Energía metabolizable</b>
<b>ENSANUT</b>	<b>Encuesta Nacional de Salud y Nutrición</b>
<b>et. al.</b>	<b>Y demás.</b>
<b>FAO</b>	<b>Food and Agriculture Organization</b>
<b>FD</b>	<b>Fibra dietética</b>
<b>FI</b>	<b>Fibra insoluble</b>
<b>FS</b>	<b>Fibra soluble</b>
<b>g</b>	<b>gramos</b>
<b>GAQ</b>	<b>Equivalentes de ácido gálico</b>
<b>HA</b>	<b>Harina de amaranto</b>
<b>HAL</b>	<b>Harina de alga</b>
<b>HDL</b>	<b>Lipoproteínas de alta densidad</b>
<b>HF</b>	<b>Harina de frijol</b>
<b>HN</b>	<b>Harina de nopal</b>
<b>IAA</b>	<b>Índice de absorción de agua</b>
<b>IMC</b>	<b>Índice de masa corporal</b>
<b>INEGI</b>	<b>Instituto Nacional de Estadística y Geografía</b>
<b>ISA</b>	<b>Índice de solubilidad de agua</b>
<b>Kg</b>	<b>Kilogramos</b>
<b>L</b>	<b>Litro</b>
<b>LDL</b>	<b>Lipoproteínas de baja densidad</b>

<b>LYS</b>	<b>Lisina</b>
<b>mg</b>	<b>miligramos</b>
<b>mL</b>	<b>mililitros</b>
<b>mm</b>	<b>milímetros</b>
<b>N</b>	<b>Newton</b>
<b>°C</b>	<b>Grados Celsius</b>
<b>OMS</b>	<b>Organización Mundial de la Salud</b>
<b>ONU</b>	<b>Organización de Naciones Unidas</b>
<b>ORAC</b>	<b>Capacidad de absorbanca de radicales oxígeno</b>
<b>PDCAAS</b>	<b>Valor de aminoácido limitante corregido por digestibilidad de proteína</b>
<b>PER</b>	<b>Rango de eficiencia proteica</b>
<b>QPM</b>	<b>Maíz de alta calidad proteica</b>
<b>RVA</b>	<b>Analizador rápido de viscosidad</b>
<b>SEDESOL</b>	<b>Secretaría de Desarrollo Social</b>
<b>Te</b>	<b>Temperatura final</b>
<b>TEAC</b>	<b>Equivalentes de radical trolox</b>
<b>To</b>	<b>Temperatura de inicio</b>
<b>Tp</b>	<b>Temperatura pico</b>
<b>TR</b>	<b>Tortilla regular</b>
<b>TRP</b>	<b>Triptófano</b>
<b>UNICEF</b>	<b>Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia</b>
<b>UNP</b>	<b>Utilización neta de proteína</b>
<b>USDA</b>	<b>Departamento de Agricultura de los Estados Unidos</b>
<b>VAAE</b>	<b>Valor de aminoácido limitante</b>
<b>VB</b>	<b>Valor biológico</b>
<b>Wf</b>	<b>Peso final</b>
<b>Wi</b>	<b>Peso inicial</b>
<b>Wt</b>	<b>Peso de tortilla</b>

## INTRODUCCIÓN

La nutrición es el proceso a través del cual el organismo obtiene de los alimentos la energía y los nutrimentos necesarios para el sostenimiento de las funciones vitales y de la salud. La ingestión inadecuada de alimentos en cantidad o calidad ocasiona la mala nutrición, la cual se asocia con defectos en diversas funciones y con un aumento en el riesgo de varias enfermedades, por lo que la nutrición es uno de los principales determinantes en el proceso salud-enfermedad (ENSANUT, 2006).

La mala nutrición, ya sea por el consumo excesivo de alimentos o por el déficit de éstos, resulta en diversos padecimientos que afectan en gran medida la salud integral. El consumo excesivo de alimentos o de energía conduce al sobrepeso o a la obesidad; lo cual puede conllevar a enfermedades generadas por el sobrepeso y obesidad, como lo son la diabetes, enfermedades cardiovasculares y crónico-degenerativas. Esto, aunado a la interacción con factores genéticos, los patrones de consumo excesivo de determinados alimentos o nutrimentos incrementan la posibilidad del desarrollo de estos padecimientos.

En las últimas dos décadas, México ha cambiado drásticamente sus estadísticas de nutrición. Dentro de los cambios significativos que podemos encontrar es que de tener niveles importantes de desnutrición aguda (emaciación) y prevalencia de baja talla en niños menores de 5 años, ha pasado a un índice de sobrepeso y obesidad considerado una epidemia, tanto en este rango de población como en adolescentes y adultos. Además, el sesgo entre el estado nutricional de los estados del norte de la República comparados con los del sur y zonas con una alta densidad de población indígena se ha incrementado, haciendo más notorio el estado de desnutrición en la población (SEDESOL, 2008).

Debido a este hecho, tanto la industria alimentaria del país como el gobierno, han realizado esfuerzos para aminorar dichos problemas de salud mediante programas de fortificación de alimentos de alto alcance, como en la leche y principalmente, la tortilla de maíz nixtamalizado. La importancia de la tortilla de maíz nixtamalizado se debe a que el maíz (*Zea mays* L.) desde la época precolombina hasta la actualidad, ha sido el alimento principal de la población mexicana; especialmente en su forma de tortilla; llegando a ser el producto con mayor consumo per cápita del país, con 127Kg (Morris, 1998).

Por lo tanto, la tortilla y afines son los productos más consumidos por la población, observándose que mientras más bajo el nivel socioeconómico hay una mayor dependencia hacia este alimento, siendo en zonas rurales o con alto porcentaje de población indígena el proveedor del 70% de calorías totales y el 50% del consumo total proteico. Este último dato es de suma importancia, ya que, la proteína del maíz es de bajo valor biológico, debido a la deficiencia que presenta en aminoácidos esenciales como lisina y triptófano, por lo que repercute en enfermedades por deficiencia de proteína como marasmo y en casos extremos,

kwaishorkor; afectando integralmente el desarrollo físico, fisiológico y cerebral del individuo (Serna-Saldivar, 1998; Amaya-Guerra, 2003). Además de este hecho, la tortilla de maíz adolece de niveles adecuados de micronutrientes como Hierro y Zinc; vitamina A, vitamina D, vitamina E y B12 (Serna-Saldivar y Amaya-Guerra, 2008).

Desde 1999, la tortilla de maíz es fortificada con vitaminas y minerales (5mg/Kg de vitamina B1, 3mg/Kg de B2, 35mg/Kg de Niacina, 2mg/Kg de ácido fólico y 30mg/Kg de Hierro y 20mg/Kg de Zinc) (ENSANUT, 2006). Sin embargo, la fortificación proteica de la tortilla ha quedado al margen de esta situación, siendo las proteínas de gran importancia para el desarrollo fisiológico y cognitivo del infante, así como para el mantenimiento de un buen estado de salud. Por otro lado, la adición de fibra dietética podría ayudar a personas con sobrepeso y obesidad, ya que está comprobado su efecto coadyuvante para disminuir problemas cardiovasculares, diabetes y pérdida de peso, así como de índice de masa corporal.

Por lo tanto, se propone un estudio en donde se evalúe la fortificación de la tortilla de maíz nixtamalizado con una mezcla de harinas de cultivos propios de nuestro país, como lo son el amaranto (*Amaranthus spp*) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*), ricos en proteína de alto valor biológico, y nopal (*Opuntia ficus-indica*), fuente importante de fibra dietética; además de una harina de un alga cosmopolita y presente de forma natural en aguas nacionales, el alga *Ulva clathrata*, la cual presenta características nutricionales, funcionales y sensoriales de interés científico y comercial; para así obtener formulaciones de tortilla de maíz con mejor balance de aminoácidos y alta en contenido de fibra dietética.

Este estudio comprende el observar el efecto reológico, textural y sensorial que confiere la mezcla de harinas a la tortilla de maíz así como determinar el efecto de los tratamientos en el crecimiento y desarrollo fisiológico, tanto en un modelo animal de dos generaciones con ratas de laboratorio como en un bioensayo con ratas de laboratorio en edad reproductiva.

## Definición del Problema y Justificación

México presenta una situación nutricional por debajo de lo esperado para su nivel de desarrollo. La desnutrición crónica sigue siendo un reto para la salud pública del país, teniendo estadísticas dispares en el nivel de nutrición de infantes según la zona geográfica. Por otro lado, se tiene una epidemia de sobrepeso y obesidad, con datos de que 1 de cada 3 personas entre 20 y 49 años tiene un índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 30 (ENSANUT, 2006; SEDESOL, 2008).

El maíz (*Zea mays* L.) desde la época precolombina hasta la actualidad, ha sido el alimento principal de la población mexicana. La tortilla de maíz se considera una excelente fuente de calorías debido a su alto contenido de almidón y al igual, una excelente opción para personas con intolerancia al gluten. Sin embargo, la tortilla de maíz adolece de una buena calidad proteica y de fibra dietética (Serna-Saldivar y Amaya-Guerra, 2008), compuestos que podrían ayudar a los problemas mencionados.

Debido a esto, se propone enriquecer la tortilla de maíz nixtamalizado con 4 diferentes harinas: amaranto (*Amaranthus spp*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), nopal (*Opuntia ficus-indica*) y alga (*Ulva clathrata*) para que llegue a ser un alimento completo, a bajo costo y ataque dos de los principales problemas de nutrición de los que adolece a nuestra sociedad:

- Falta de proteína de alto valor biológico.
- Deficiencia de fibra dietética en la dieta.

## **OBJETIVO GENERAL**

Observar los efectos fisiológicos causados por la fortificación de tortillas de maíz nixtamalizado con diferentes proporciones de harina de amaranto (*Amaranthus spp*), frijol (*Phaseolus vulgaris*), nopal (*Opuntia ficus-indica*) y alga (*Ulva clathrata*) en un modelo animal.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

Formular 2 grupos de tratamientos: a) alto en proteína y b) altas en fibra dietética; ambos basados en recomendaciones nutricionales.

Evaluar el efecto de estas fortificaciones sobre la reología y las propiedades texturales de masa y tortilla de maíz nixtamalizado.

Evaluar el efecto de los tratamientos altos en proteína sobre el crecimiento, digestibilidad, retención de nitrógeno y desempeño reproductivo en un modelo animal con ratas Wistar en el transcurso de dos ciclos de vida, emulando ciclos generacionales en humanos.

Determinar el efecto de los tratamientos altos en fibra dietética sobre los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol sanguíneo en ratas Wistar en edad reproductiva.

## **HIPÓTESIS**

La fortificación con harinas de amaranto, frijol, nopal y alga, confiere efectos positivos en el crecimiento y desarrollo sobre ratas Wistar, además de beneficios a la salud, disminuyendo niveles séricos de glucosa, colesterol y triglicéridos.

## ANTECEDENTES

### **El maíz (*Zea mays*)**

#### **Historia y orígenes del cultivo**

Desde los inicios de la civilización en América, el maíz (*Zea mays* L.) ha jugado un papel importante en la vida de los habitantes de América. Ya en la época precolombina era la base de la alimentación entre los diversos pueblos autóctonos de México y Centroamérica, junto con el frijol, el chile y la calabaza. Existen evidencias que la existencia más antigua del maíz se remonta a unos 7,000 años de antigüedad. Se han encontrado por arqueólogos rastros de maíz en el valle de Tehuacán, Puebla. Este cereal era un alimento esencial en las civilizaciones maya y azteca y tuvo un importante papel en sus creencias religiosas, festividades y nutrición; ambos pueblos incluso afirmaban que la carne y la sangre estaban formadas por maíz (Serna Saldivar *et. al.* 1990).

Pese a la gran diversidad de sus formas y colores, todos los tipos principales de maíz conocidos hoy en día, clasificados como *Zea mays*, eran cultivados ya por las poblaciones autóctonas de la región, aún antes de la llegada de los españoles al continente americano. Los indicios recogidos mediante estudios de botánica, genética y citología apuntan a un antecesor común de todos los tipos existentes de maíz. La mayoría de los investigadores creen que este cereal se desarrolló a partir del teosinte (*Euchlaena mexicana* Schrod), cultivo anual, pariente más cercano al maíz. Otros creen, en cambio, que se originó a partir de un maíz silvestre, hoy en día desaparecido. La tesis de la proximidad entre el teosinte y el maíz se basa en que ambos tienen 10 cromosomas y son homólogos o parcialmente homólogos.

Ha habido introgresión (retrocruzamiento reiterado) entre el teosinte y el maíz y sigue habiéndola hoy en día en algunas zonas de América Latina, principalmente México y Guatemala. Autores señalan que siguen siendo viables esencialmente dos de las diversas hipótesis sobre el origen del maíz: la primera es que el teosinte actual es el antecesor silvestre del maíz, y/o un tipo primitivo de teosinte es el antecesor silvestre común del maíz y del teosinte; la segunda es que una forma desaparecida de maíz tunicado fue el antecesor

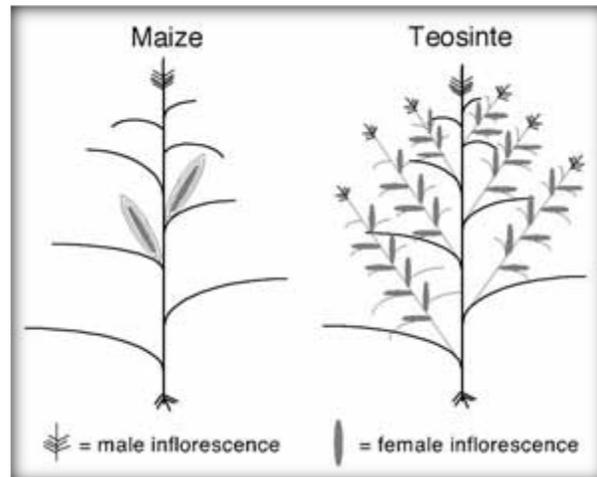
del maíz, y el teosinte fue, en cambio, una forma mutante de dicho grano tunicado (Galinat, 1977). En cualquier caso, la mayoría de las variedades modernas del maíz proceden de material obtenido en el sur de los Estados Unidos, México y América Central y del Sur.

### **Clasificación del maíz**

Taxonómicamente, el género *Zea* está dividido en secciones: *Luxuriantes* y *Zea*, esto basado en la morfología de las glumas (Iltis y Doebley, 1980). La sección *Luxuriantes* se agrupó en tres especies: *Z. luxurians*, *Z. diploperennis* y *Z. perennis*. La sección *Zea* comprende sólo una especie, *Zea mays*, la cual está subdividida en tres subespecies: *ssp mays*, para el maíz, *ssp mexicana* para las razas Nobogame, Central Plateau y Chateo (Wilkes), y *ssp parviglumis*, la cual está separada en dos variedades, *var. parviglumis* para la raza Balsas de Wilkes y *var. Huehuetenangensis* para la raza Huehuetenango de Wilkes. Más tarde, Doebley (1984, 1990) sugirió que la variedad *huehuetenangensis* fuera elevada a nivel de subespecie.

### **La planta de maíz**

Botánicamente, el maíz es perteneciente a las gramíneas, por lo tanto, es una planta monoica; es anual, dotada de un amplio sistema radicular fibroso. Sus inflorescencias masculinas (espiguillas) y femeninas (elote, mazorca, espiga) se encuentran en la misma planta pero situadas en distinto lugar. Si bien la planta es anual, su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2,5m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido; algunas variedades silvestres alcanzan los 7m de altura. En las panojas es donde se desarrolla el grano, en un número variable de hileras (12 – 16), produciendo de 300 a 1000 granos, que pesan entre 190 y 300 g por cada 1000 granos. El peso depende de las distintas prácticas genéticas, ambientales y de cultivo pero la relación entre el peso del grano y el peso total de la planta es, en la mayoría de las variedades de maíz, de aproximadamente 0,52. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso en seco de la planta (Carlson, 1988). De 100 kg de panojas se obtienen alrededor de 18 kg de granos (FAO, 1993).



**Fig 1. Morfología de la planta de maíz (izquierda) (Doebly 2003).**

### **El grano de maíz**

El grano de maíz se denomina cariósido o cariopsis; cada grano contiene el revestimiento de la semilla, o cubierta seminal, y la semilla, conformada a la vez por el endospermo y el germen. Al endospermo, la parte de mayor tamaño, corresponde cerca del 83% del peso del grano, en tanto que el germen equivale en promedio al 11% y el pericarpio al 5%. El resto está constituido por la piloriza, estructura cónica que junto con el pedicelo une el grano a la espiga (Serna-Saldivar, 1996).

Respecto al endospermo, este está conformado de dos tipos: el translúcido o vítreo donde los gránulos de almidón tienen forma cúbica y están compactos, no existiendo aire o espacio entre gránulos y el endospermo opaco o harinoso, donde los gránulos de almidón son esféricos, están cubiertos por una matriz proteica y existen muchos espacios de aire entre gránulos (Wolf, *et. al.*, 1952).

Químicamente, las diferentes partes anatómicas del grano difieren en su composición (Tabla 1). El pericarpio contiene aproximadamente 87% de fibra cruda, constituida por hemicelulosa (67%), celulosa (23%) y lignina (0.1%). El endospermo, en cambio, presenta un nivel elevado de almidón (87%), aproximadamente 8% de proteína y un contenido de lípidos relativamente bajo. El germen se caracteriza por su elevado contenido de lípidos crudos (33% en promedio), además de un nivel de proteína alrededor al 20% y minerales (Serna-Saldivar, 1996).

El componente principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 73% del peso del grano, conteniendo otros carbohidratos como glucosa, sacarosa y fructosa en cantidades que van del 1 al 3% del grano, según la variedad.

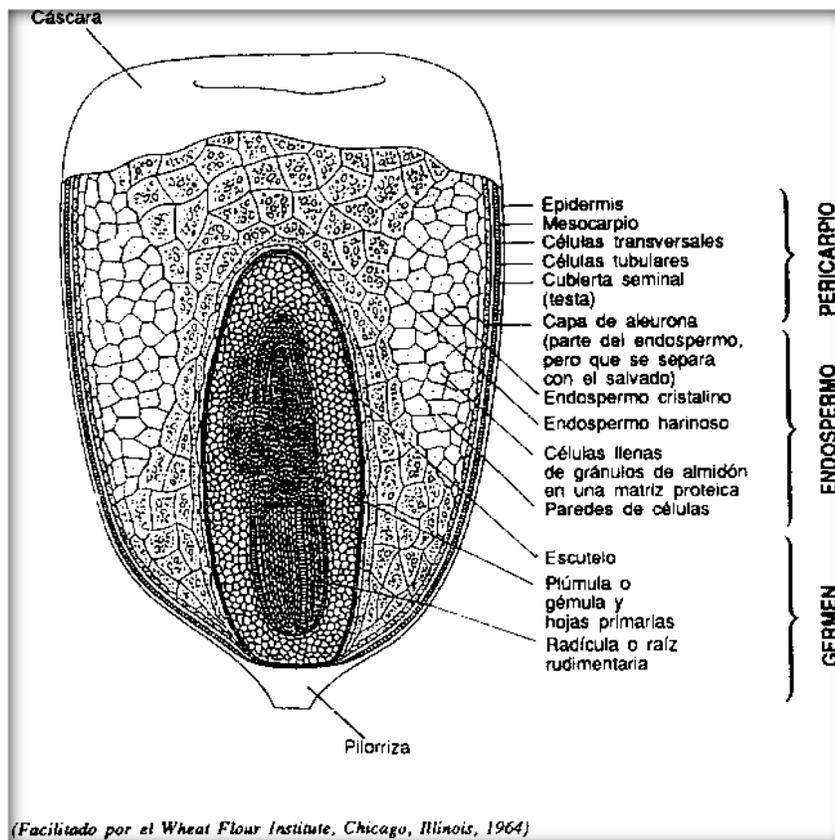
Después del almidón, las proteínas constituyen el siguiente componente químico del grano por orden de importancia, principalmente se encuentran en el endospermo, formando la capa de aleurona. Pueden variar entre un 8 y 11% del peso del grano, según la variedad de maíz (Amaya-Guerra, 2003). Las proteínas del grano de maíz, zeínas, han sido ampliamente estudiadas, de dónde se ha concluido que hay al menos 5 fracciones proteicas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\gamma$  zeína, principalmente), las cuales, cabe mencionar que desde el punto de vista de balance de aminoácidos, son muy bajas en lisina y triptófano (Graham *et. al.*, 1990).

Estas proteínas se encuentran principalmente en el endospermo, las cuales representan el 60% de la proteína total, siendo glutelinas (26%), albúminas y globulinas (6%) el resto (Wilson, 1987). Las zeínas se consideran prolaminas pero la clasificación moderna las incluyen dentro de las prolaminas y proteínas que son solubles en una mezcla de agua y alcohol con un agente reductor.

**Tabla 1. Composición química proximal de las partes anatómicas principales de los granos de maíz en base seca.**

Componente químico	Pericarpio (%)	Endospermo (%)	Germen (%)
<b>Proteína</b>	3.7	8.0	18.4
<b>Extracto etéreo</b>	1.0	0.8	33.2
<b>Fibra cruda</b>	86.7	2.7	8.8
<b>Cenizas</b>	0.8	0.3	10.5
<b>Almidón</b>	7.3	87.6	8.3
<b>Azúcar</b>	0.34	0.62	10.8

Fuente: Watson, 1987.



**Fig. 2. Estructura del grano de maíz: corte longitudinal (FAO, 2008).**

El aceite de grano de maíz está fundamentalmente en el germen y viene determinado genéticamente, con valores que van del 3 al 18%. Este aceite contiene niveles relativamente elevados de ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente ácido linoleico, con un valor medio de 24%. Este aceite es relativamente estable por contener únicamente pequeñas cantidades de ácido linolénico (0.7%) y niveles elevados de antioxidantes naturales.

La fibra en el grano de maíz se encuentra principalmente en el pericarpio y la capa terminal; el restante está en las paredes celulares del endospermo y en menor medida, en las del germen. El salvado de maíz está formado por un 75% de hemicelulosa, 24.9% de celulosa y 0.1% de lignina en base seca (Serna-Saldivar, 1996).

La concentración de cenizas dentro del grano es aproximadamente de 1.3%, ligeramente menor que el contenido de fibra cruda, del cual, el 78% es proporcionado por el germen, siendo el Fósforo y el Magnesio los minerales más abundantes. Como es común en los cereales, el maíz presenta una baja concentración de Calcio y oligoelementos (Bressani *et. al.*, 1989).

Además de estos nutrientes, el grano de maíz presenta vitaminas, tanto liposolubles, como provitamina A, vitamina E y vitaminas del complejo B. La provitamina A puede variar según la genética del grano del maíz, ya que está en forma de carotenoides, siendo el maíz amarillo el más rico en esta vitamina. La vitamina E está principalmente en el germen. Las vitaminas hidrosolubles están mayormente almacenadas en la capa de aleurona y en menor medida en el germen y en el endospermo. Se han encontrado cantidades considerables de tiamina, riboflavina y niacina, siendo ésta la más estudiada debido a la asociación con la deficiencia de niacina (pelagra), fenómeno altamente difundido en poblaciones que consumen gran cantidad de maíz (Serna-Saldivar, 1996). Este padecimiento puede evitarse con el cocimiento alcalino, ya que la niacina está ligada y durante este proceso se libera, pero aun así, el hecho de que se presente pelagra en una población también está asociado al desequilibrio de aminoácidos (Bressani *et. al.*, 1990; Serna-Saldivar, 1996).

### **El maíz como fuente principal de nutrientes en México**

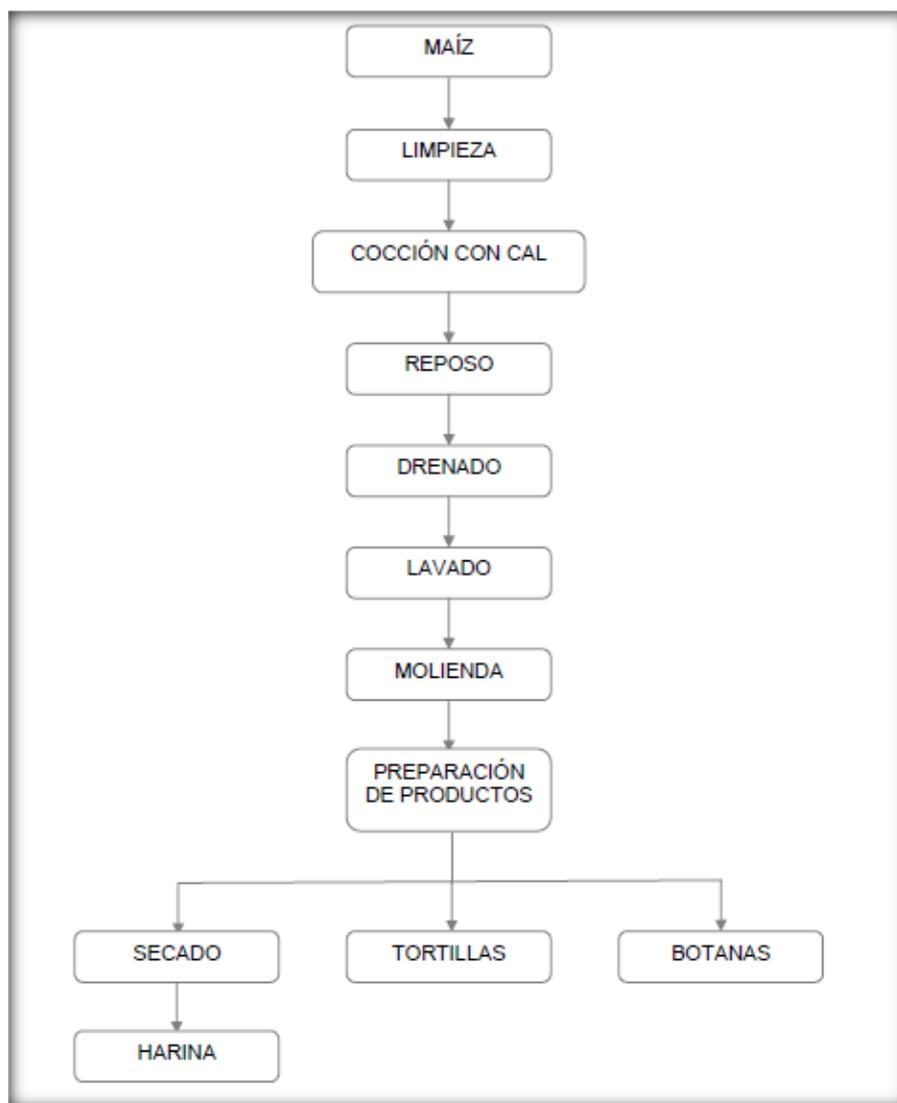
Como ya se mencionó con anterioridad, el maíz (*Zea mays* L.), desde la época precolombina hasta la actualidad, es el alimento principal de la población mexicana y parte importante en la dieta de muchos países de América. Tanto del grano entero como del grano procesado y molturado (masa) se pueden obtener gran cantidad de productos, como pozole, pinole, tortillas, tamales y tostadas, además de que el grano sirve como sustrato para la producción del hongo comestible, huitlacoche. A nivel mundial el 21% del maíz producido se consume directamente como alimento, en México esa cifra aumenta hasta el 68%, teniendo un consumo per cápita de 127Kg (Morris, 1998), principalmente como tortilla procedente de harina nixtamalizada.

## Proceso de nixtamalización

La nixtamalización es un proceso antiguo que data de la época prehispánica, que consistía en el cocimiento de este cereal en cenizas de leña, y que al mezclar con el agua se convertía en una lejía alcalina que modificaba las propiedades físicas, químicas y sensoriales del grano cocido (Amador, 1999). Actualmente este proceso continúa siendo utilizado, a nivel artesanal o industrial, sustituyendo las cenizas de leña por la cal apagada o  $\text{Ca(OH)}_2$ . Este proceso, consiste en el cocimiento del grano de maíz en una solución alcalina a temperaturas que oscilan de 80-100 °C por 30-45 minutos, para posteriormente dejar en reposo el grano en soluciones acuosas de hidróxido de calcio  $\text{Ca(OH)}_2$ , por tiempos largos de 8-24 horas (Fig 3). La solución de cocción o nejayote es drenada y el grano es lavado, posteriormente el grano nixtamalizado es sometido a una molienda y secado para la producción de harina para la elaboración de tortilla y productos derivados como frituras, totopos, tostadas, etc. (Serna *et. al.* 1993).

A partir de este proceso, se pueden obtener una amplia gama de productos, según la variedad y el empleo del grano utilizado para el proceso, así como variaciones en el proceso. Dentro de los productos más comunes podemos mencionar la harina, masa y tortilla de maíz nixtamalizado.

- **Harina.** La harina de maíz, se puede obtener de diferentes procesos, su obtención se basa en el secado del producto de la molienda del grano, el material seco es separado por el tamaño de partículas. Esta se formula para los diferentes productos que se deseen obtener, y es menos cohesiva que la masa fresca (Lobeira *et. al.* 1998).
- **Masa.** La masa es el producto obtenido a partir de la molienda del grano de maíz cocido, mediante molinos de piedra u molinos de martillos a nivel industrial, para la obtención de harinas o la masa directamente con la adición de agua (625 mL agua / kg maíz) durante la molienda y el posterior amasado de 2-3 min, para obtener una masa con características reológicas adecuadas. Este producto es la base para la preparación de harinas instantáneas, tortillas y productos derivados (Khan *et. al.* 1982).
- **Tortilla.** Este producto es el de mayor consumo a nivel nacional, además de ser el más popular. Comercialmente, puede variar mucho en cuanto a calidad, debido a que no hay un proceso estandarizado a nivel mediana o pequeña empresa. Actualmente la industria de la tortilla utiliza aditivos (conservadores, blanqueadores, entre otros) que afectan las propiedades sensoriales (sabor, color y olor principalmente) de este producto.



**Fig 3. Proceso de nixtamalización tradicional (Serna *et. al.*, 1993).**

Las principales características de la tortilla son: consistencia, flexibilidad, firmeza, uniformidad de su estructura, color, aspecto higiénico, vida de anaquel y características sensoriales como sabor, aroma, textura (INEGI, 2005, Enríquez, 2003 y San Vicente, 1996). Así mismo este producto tiene malas características en relación a las condiciones en las que fue realizada o pierde estos atributos con respecto al tiempo, manifestándose principalmente con características de textura (Bedolla *et. al.*, 1983 Cortés *et. al.*, 2005 y Khan *et. al.*, 1982) alta dureza, fracturabilidad (Gorton 1984), pérdida de rolabilidad (Suhendro *et. al.*, 1998) y pérdida de color (Martínez *et. al.*, 2001), entre otros.

En nuestro país el consumo de productos derivados del maíz nixtamalizado es de aproximadamente 300g per cápita diario en promedio (INEGI, 2005), es decir, la demanda de estos productos es alta, por lo que la industria debe buscar la modernización de sus procesos y la adaptación de proceso continuos de producción con la finalidad de aumentar la producción, minimizando el consumo de insumos (agua y energía) sin descuidar la calidad de los productos.

### **Cambios nutrimentales durante la nixtamalización**

La transformación del maíz en tortillas requiere un proceso en el que se utiliza, básicamente, agua, calor e hidróxido de calcio. Estos tres elementos influyen en la composición química del grano de maíz procesado, dando lugar a modificaciones físicas y químicas en la estructura del mismo, afectando pericarpio, endospermo y germen. 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 (Bressani, 1990a). En el presente trabajo se ahondará en los cambios fisicoquímicos y nutricionales del grano, haciendo hincapié en el endospermo, parte primordial en la producción de tortillas de maíz.

Dentro de los cambios más significativos es el cambio del valor nutricional de la proteína. Se ha reportado que la zeína, proteína principal del grano y nutricionalmente pobre, disminuye su solubilidad (Watson, 1987 y Vivas *et. al.*, 1987), mientras que la glutelina, con mejor balance aminoacídico, aumenta su solubilidad (Trejo *et. al.*, 1982 y Vivas *et. al.*, 1987), aumentando la disponibilidad de aminoácidos esenciales en el grano como lisina (2.8 veces), triptófano, la relación isoleucina-leucina (1.8 veces).

Otros autores señalan que, bajo ciertas condiciones, ocurre el caso contrario. Se ha observado que la cocción con cal decrementa ligeramente la digestibilidad de la proteína y la biodisponibilidad de la lisina, lo que genera una disminución en la digestibilidad de la proteína de la tortilla, siendo 3% más baja que en el grano de maíz (Serna Saldivar *et. al.*, 1987, 1988b).

Además, se han detectado pequeñas pérdidas de arginina y cistina a causa del tratamiento en agua de cal en el maíz común y en el maíz de alta calidad proteica (QPM). En la masa comercial, encontraron 0.020 g de lisinoalanina por cada 100 g de proteínas, y en las tortillas 0.081 g por cada 100 g de proteínas (Sanderson *et. al.* 1978).

Diferentes reportes han encontrado pequeñas pérdidas de triptófano en las tortillas de maíz común (11%) y en el maíz QPM (15%) (Ortega *et. al.* 1986). Otras investigaciones reportaron pérdidas más elevadas de ambos aminoácidos en el maíz común y en el maíz QPM transformado en tortillas mediante procedimientos de elaboración tradicional campesina (Bressani *et. al.* (1990b). Asimismo, se han indicado también que, dadas las pequeñísimas pérdidas de lisina del producto alcalino, probablemente había cantidades mínimas de lisinoalanina en las tortillas de maíz común y en el maíz QPM empleadas en su experimento Ortega *et. al.* (1986).

Otro fenómeno importante durante la nixtamalización es la gelatinización del almidón. Dicho proceso, es un cambio en la estructura de las moléculas de almidón, presentando una fase de transición del estado ordenado al estado desordenado (Gunasekaran *et. al.*, 2006). En este proceso, el gránulo absorbe agua, en presencia de calor. La parte interna muestra un cambio en su estructura de manera tal que cuando un gránulo de almidón es calentado en agua, con la progresiva hidratación se rompen los enlaces más débiles (enlaces de hidrógeno) en las áreas amorfas, desapareciendo la estructura altamente ordenada (cristalina) debido a la fusión, ocurriendo el hinchamiento de la amilosa (parte amorfa o desordenada) contenida en los gránulos. Las moléculas de este polímero son solubilizadas y pasan a la parte externa del gránulo rodeando a las cadenas de amilosa, hasta llegar a la posible pérdida de la estructura radial (Badui, 1999; FAO, 2008; Fennema, 1982). Este proceso ocurre durante la nixtamalización solo de manera parcial (Mondragón *et. al.* 2004, Tovar *et. al.* 2004, Fernández *et. al.* 2006 y Laria *et. al.* 2007).

El procedimiento de gelatinización requiere energía (Gunasekaran *et. al.*, 2006) y puede ser estudiado empleando un análisis térmico mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), donde se detectan los cambios en el flujo de calor, revelando los cambios en la temperatura de inicio (To), la temperatura máxima (Tp) y la temperatura a la cual termina (Te), la gelatinización, además de la energía requerida para que este fenómeno acontezca. Es un proceso endotérmico y se caracteriza por varios cambios particulares de la estructura granular, como el hinchamiento y disolución de gránulos, la exudación de algunos complejos moleculares y pérdida del grado de cristalinidad (Arámbula *et. al.* 1998).

Es importante hacer notar que la proporción de los diferentes componentes del almidón (amilosa y amilopectina) pueden provocar variaciones en el fenómeno de la gelatinización, afectando la cantidad de humedad y el rango de temperatura necesarios. Valores bajos de entalpías de gelatinización fueron reportados debido a la alta proporción de amilosa y baja proporción de amilopectina, en almidones de diversas fuentes (Singh *et. al.* 2006; Huijbrechts *et. al.*, 2008).

Otros efectos importantes son la liberación de niacina, el aumento en la cantidad y disponibilidad del calcio (Bressani *et. al.*, 1958; Cuevas *et. al.*, 2006; FAO, 2008, Tonella *et. al.*, 1983 y Watson, 1987) y la pérdida de cantidades importantes de fibra dietética, debido a la pérdida de la mayoría del pericarpio en el proceso de nixtamalización (Serna Saldívar *et. al.*, 1991).

## **Elaboración de tortillas de maíz**

### **Elaboración artesanal**

En la literatura, se ha descrito el proceso de cocción alcalina del grano de maíz en zonas rurales, para el mayor entendimiento de los fenómenos ocurridos a nivel laboratorio e industrial. En los 1940's se describió el proceso llevado en México, el cual consiste en mezclar una parte de maíz integral con dos partes de una solución de cal al 1% aproximadamente. La mezcla es calentada a 80°C durante un lapso de 20 a 45 minutos y se deja reposar toda la noche. Al día siguiente, se decanta el líquido cocido (nejayote), y el maíz (nixtamal) es lavado de dos a tres veces con agua para eliminar las cubiertas seminales, la capa terminal, la cal sobrante y las impurezas del grano (Illescas 1943). Originalmente, se convertía el maíz en masa moliéndolo varias veces con una piedra plana (metate) hasta que las partículas alcanzaran la finura deseada. En la actualidad, la molienda inicial se realiza con un molino de discos para posteriormente refinar la masa con el metate. Al terminar el procedimiento, se toman unos 50g de masa y se aplanan, cociéndolo luego por ambos lados en una plancha metálica caliente (comal) o placa de arcilla para obtener la tortilla. Estas tortillas generalmente son gruesas y poco flexibles, diferentes a las producidas a nivel industrial.

## **Elaboración industrial**

Diversos factores, entre ellos la migración del campo a la ciudad, hicieron surgir una demanda de tortillas cocinadas o precocidas, de fácil y rápido consumo. Se ideó el equipo necesario para transformar el maíz en bruto en maíz nixtamalizado para la producción de masa y tortillas, y así iniciar la producción industrial de harina a gran escala. Después de la Segunda Guerra Mundial, la producción mecanizada de tortillas adquirió importancia en México hasta hoy en nuestros días. En las zonas urbanas hay dos líneas de producción de tortilla, a) pequeñas industrias caseras que siguen el procedimiento descrito como “artesanal” y b) la producción a gran escala de harina instantánea.

En el primer caso, puede presentarse el uso de maquinaria y equipo para la producción de volúmenes mayores. Esto ha sido posible gracias al empleo de molinos rotatorios y de la máquina tortillera diseñado por Romero en 1908 y sus posteriores modificaciones. El proceso se basa en hacer pasar la masa por un tambor metálico rotatorio que la corta en forma de tortillas; éstas caen a una cinta transportadora o sartén de cocción continua y desembocan en un receptáculo situado al final de la cinta. Esta pequeña industria puede utilizar harina industrial para tortillas o maíz integral, en cuyo caso la masa se cuece en receptáculos de grandes dimensiones (Bressani, 1990a).

La otra variante, la transformación industrial, se enfoca en la producción a gran escala del maíz en harina instantánea precocida para tortillas. El procedimiento, que ha sido descrito por diversos investigadores (Deschamps, 1985, Serna-Saldívar, 1990), se basa en el método utilizado tradicionalmente en las zonas rurales. El maíz se selecciona según su contenido de humedad, pues si el grano tiene mucha humedad planteará problemas de almacenamiento y tecnológicos. Durante la fase de limpieza, se eliminan todas las impurezas, como suciedad y hojas. Una vez limpio, el maíz se almacena. De ahí se transporta a las instalaciones de elaboración para su cocción en agua con cal, convirtiéndolo en nixtamal, ya sea en tandas o mediante un procedimiento de elaboración continua. Tras su cocción y macerado, el maíz tratado se lava con agua a presión o pulverización y se tritura hasta que forme una masa que se lleva a un secador y se convierte en harina. Dicha harina, formada por partículas de todos los tamaños, se pasa por un tamiz que separa las partículas gruesas de las finas. Las partículas gruesas se reprocessan en el molino y las finas, que constituyen el producto acabado, se envían a las instalaciones de empaquetado, donde se envasan en bolsas de papel reforzado. El rendimiento industrial de la harina de maíz nixtamalizado fluctúa entre el 86 y el 95%, según el tipo de maíz, calidad de los granos enteros y las condiciones en que se realiza el tratamiento con cal, siendo éstos mayores al rendimiento artesanal.

La harina resultante es un polvo fino, seco, blanco o ligeramente amarillo que tiene el olor característico de la masa de maíz. Dicha harina, mezclada con agua, proporciona una masa adecuada para elaborar tortillas, tamales, atoles, entre otros. Oscila entre un 10 y 12% de humedad. Si la humedad es superior, es susceptible a contaminación microbiana, especialmente hongos, ya que su  $A_w$  es muy baja, lo que no hace viable el crecimiento bacteriano. Otra cuestión que afecta la estabilidad de la harina es la rancidez, que normalmente no constituye un problema salvo que se empaquete a altas temperaturas. El tiempo mínimo para que la harina se deteriore es de cuatro a seis meses en invierno y de tres meses en verano (Del Valle, 1972).

### **Fortificación de tortillas de maíz**

La tortilla de maíz se considera una excelente fuente de calorías debido a su alto contenido de almidón y al igual, una excelente opción para personas que tienen intolerancia al gluten. Desafortunadamente, la tortilla de maíz adolece de una buena calidad proteica y de niveles adecuados de micronutrientes y fibra dietética (Serna-Saldivar y Amaya-Guerra, 2008).

México produce mensualmente más de 230,000 toneladas de harina nixtamalizado de maíz, lo que equivale a 370,000 toneladas de tortillas y un consumo mensual de 4.1Kg de tortilla/persona (Serna Saldivar, 1998). La tortilla y productos afines son los productos más consumidos por la población, observándose que mientras más bajo el nivel socioeconómico hay una mayor dependencia hacia este alimento. Dentro de las zonas rurales, el maíz provee alrededor del 70% de calorías y el 50% del consumo total proteico. Este último dato es de suma importancia, ya que, como se mencionó anteriormente, las zeínas son deficientes en aminoácidos esenciales lisina y triptófano, por lo que esto puede repercutir en enfermedades por deficiencia de proteína como marasmo y en casos extremos, kwaishorkor (Serna Saldivar, 1998; Amaya-Guerra, 2003).

Desde mediados del siglo pasado y en la década de 1970's, se han desarrollado investigaciones y planes de suplementación de la tortilla de maíz con otra fuente proteica que ayude al balance de aminoácidos esenciales. Dentro de estos rubros, se pueden citar numerosos trabajos del Dr. Ricardo Bressani, donde estudió mezclas de maíz con

suplementación con aminoácidos (Bressani *et. al.*, 1968), con diversas leguminosas como frijol negro (Bressani *et. al.*, 1962; Navarrete *et. al.*, 1981), frijol y vitaminas y minerales (Contreras *et. al.*, 1981), caupí (*Vigna sinensis*), frijol de árbol (*Cajanus cajan*), haba (*Vicia faba*), soja verde (*Phaseolus aureus* o *Vigna radiata*) y soya (*Glycine max*) (Bressani *et. al.*, 1982, 1985, 1988; Noor *et. al.*, 1984), así como otras fuentes vegetales como amaranto (Mendoza y Bressani, 1987; Imeri *et. al.*, 1987; Bressani, 1994), alforfón o trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*) (Bressani *et. al.*, 1959; Wyld *et. al.*, 1959), semilla de algodón (*Gossypium hirsutum*) (Elías y Bressani, 1971), ajonjolí (*Sesamum indicum*) (Zaghi y Bressani, 1969), bleo, chipilín, hierbamora (Bressani, 1983), entre otros; los cuales, han presentado un buen balance de aminoácidos, pero algunos grupos poblacionales no tienen los recursos económicos o la disponibilidad para adquirir estos alimentos (Serna-Saldivar y Amaya-Guerra, 2008).

Uno de los intentos más notorios en esta misma década para la suplementación de la tortilla de maíz fue del Dr. Chávez Villasana, quien diseñó una “súper tortilla”, la cual contenía 8% de harina desgrasada de soya; Tiamina, Niacina, Riboflavina, Ácido fólico, Hierro y Zinc. Esta tortilla tuvo excelentes resultados nutricionales entre la población estudiada, no así los sensoriales, ya que la soya impartía un sabor peculiar. Posteriormente se mejoró, creando una tortilla mejorada con sólo 6% de aislado proteico de soya, la cual reportó características sensoriales similares a la tortilla regular (Serna-Saldivar, 1996a, Muñoz de Chávez y Chávez, 1997).

A la fecha, la única fortificación estipulada a la harina de maíz en México existe desde 1999, cuando el gobierno federal y las empresas fabricantes firmaron un convenio para enriquecer todas las harinas fabricadas en México con 5mg/Kg de vitamina B1, 3mg/Kg de B2, 35mg/Kg de niacina, 2mg/Kg de ácido fólico y 30mg/Kg de hierro y 20mg/Kg de zinc (ENSANUT, 2006).

La fortificación proteica de la tortilla ha quedado al margen de esta situación, fuera de programas sociales, al igual que la de fibra dietética. El grupo MASECA® fabrica un tipo de harina nixtamalizado con soya y la reparte entre comunidades rurales del país pero esta actividad no ha tenido eco en todas las industrias relacionadas debido a varios factores, entre ellos el costo extra que implica la fortificación, la resistencia al cambio y falta de literatura científica que avale los beneficios y efectos de la fortificación de la tortilla (Amaya-Guerra, 2003).

## Desnutrición

### Panorama general

La nutrición es el proceso a través del cual el organismo obtiene de los alimentos la energía y los nutrimentos necesarios para el sostenimiento de las funciones vitales y de la salud. La ingestión inadecuada de alimentos en cantidad o calidad ocasiona la mala nutrición, la cual se asocia con defectos en diversas funciones y con un aumento en el riesgo de varias enfermedades, por lo que la nutrición es uno de los principales determinantes en el proceso salud-enfermedad (ENSANUT, 2006).

La mala nutrición resultante del consumo excesivo de alimentos o de energía conduce al sobrepeso o a la obesidad, reconocidos factores de riesgo para varias enfermedades. Además, al interactuar con factores genéticos, los patrones de consumo excesivo de determinados alimentos o nutrimentos pueden conducir a padecimientos, como las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y algunos tipos de cáncer.

En cambio, la mala nutrición que resulta del consumo deficiente de alimentos o nutrimentos se conoce genéricamente como desnutrición, la cual tiene como causas biológicas inmediatas la ingestión dietética inadecuada y la elevada incidencia de enfermedades infecciosas y parasitarias que aumentan las necesidades de algunos nutrimentos, disminuyen su absorción, o provocan pérdidas de micronutrientes. Sin embargo, tanto la ingestión inadecuada de nutrimentos como la alta incidencia de enfermedades tienen sus raíces en la pobreza y en la falta de servicios sanitarios y de salud afectivos al alcance de toda la población.

La deficiencia nutricional puede deberse a un consumo alimentario en cantidad insuficiente (*desnutrición primaria*), a problemas en la utilización de los nutrientes por parte del organismo debido a problemas de absorción, metabólicos, o por una demanda exagerada, ya sea patológica o funcional (*desnutrición secundaria*); también puede haber *formas mixtas* de desnutrición. Por lo que se refiere a la duración de la deficiencia, la desnutrición se puede catalogar en *aguda*, asociada con adelgazamiento, y *crónica*, cuando la persistencia prolongada de la desnutrición detiene el crecimiento o produce alteraciones orgánicas además de la pérdida de peso. Es posible reconocer también formas *crónicas agudizadas* de desnutrición.

La hambruna y la malnutrición en países subdesarrollados y en vías de desarrollo son de los problemas que aún presenta la humanidad en pleno siglo XXI. La desnutrición afecta principalmente a los niños en los primeros tres años de vida, aunque las deficiencias de varios nutrimentos también pueden observarse durante la edad escolar y en mujeres de edad fértil (ENSANUT, 2006), provocando enfermedades como kwashiorkor, marasmo y deficiencia de algunos micronutrimentos que inhiben el crecimiento y debilitan al organismo, afectando de manera importante las etapas fisiológicas durante toda la vida (Serna-Saldivar y Amaya-Guerra, 2008).

### **Desnutrición proteínica**

Las necesidades de energía de los individuos están en función del gasto energético y de los ajustes requeridos para atender a circunstancias tales como el crecimiento, el embarazo, la lactancia u otras. Dosis de energía mayores o menores que las necesarias están asociadas a determinados efectos perjudiciales.

Las necesidades de proteínas se establecen, en lo cuantitativo, de acuerdo a las necesidades totales de nitrógeno y, en lo cualitativo, por el contenido de aminoácidos esenciales y la digestibilidad de la proteína.

A diferencia de las necesidades de energía, si la ingesta de proteínas es mayor que la requerida para el metabolismo el excedente se metaboliza y se excreta en los productos terminales, ya que las proteínas no se almacenan en el organismo como lo hace la energía en el tejido adiposo. Así, y en la medida que no se han detectado efectos perjudiciales para el organismo por ingestas de proteínas moderadamente superiores a las necesidades, se recomienda la llamada dosis inocua de ingestión.

En el Informe FAO/OMS/ONU (1990) la determinación de las necesidades de proteínas se basó en el cálculo de las pérdidas obligatorias de nitrógeno. Esas necesidades -que se miden en gramos- se consideraron constantes para las personas de igual peso dentro de un mismo tramo de edad. De allí que su expresión primaria corresponda a los gramos de proteínas por kilogramo de peso corporal.

A su vez, no todos los aminoácidos necesarios en la síntesis de proteínas para el crecimiento, el sostenimiento y la reparación tisular, son provistos por el organismo, por lo que debe suministrarlos el alimento ingerido. Estos aminoácidos (9 en total) se denominan aminoácidos esenciales, y el valor nutricional de las proteínas está en relación directa con el contenido de los mismos. Las proteínas de origen animal, en particular las del huevo y la leche, los contienen en cantidades y proporciones ideales, razón por la cual se las considera proteínas de alta calidad y se las utiliza como referencia para establecer las recomendaciones de este nutriente.

Cuando se compara el contenido de aminoácidos de una determinada proteína con el de la proteína de referencia, el aminoácido esencial que se encuentra en menor proporción se denomina aminoácido limitante, y el valor de dicha proporción representa el cómputo químico de la proteína. Este, conjuntamente con la digestibilidad de la misma (proporción de nitrógeno del alimento que es absorbida por el organismo), determina la calidad de la proteína dietética.

Se debe tener presente que las necesidades de proteínas presuponen la satisfacción de las necesidades de energía, porque de lo contrario parte de los aminoácidos de la dieta son utilizados como fuente de energía y no en la síntesis de proteínas (ONU, 1991).

En los niños, la desnutrición proteico-calórica tiene un efecto devastador en el crecimiento corporal, debido a la posibilidad de desarrollo de marasmo o kwashiorkor. . El marasmo se trata de un cuadro clínico presente en el primer o segundo año de vida del niño, aunque puede aparecer también en edades más avanzadas. Se caracteriza por un gran enflaquecimiento, alcanzando la pérdida ponderal al 40% o más en relación con la edad. En los estados más avanzados de la enfermedad, el infante presenta la piel arrugada, de color pálida grisácea y seca (aspecto de anciano). Además, ésta puede adelgazarse y lucir un aspecto brillante, hasta aparecer ulceraciones. El estado psíquico y mental se ve afectado de manera importante, ya que suele haber conciencia del individuo pero suele presentarse un estado de tristeza y ansiedad, pasando de la irritabilidad a la apatía o somnolencia. Muestra gran tendencia a succionarse los dedos, así como presentar un llanto débil y monótono (a veces sin causa aparente). Se presenta presión cardiaca baja y/o irregular en la mayoría de los casos. Las infecciones son muy comunes y contribuyen a empeorar el cuadro de desnutrición, siendo la causa de muerte principal (Singh, 1976).

El kwashiorkor es más frecuente en el lactante mayor y en el preescolar. La causa principal de la enfermedad es una dieta deficitaria en proteínas, presentando edemas, alteraciones digestivas (diarrea, vómitos e inapetencia) como características principales. Otro de los rasgos característicos es el gran problema psíquico que ocurre en el infante, presentando gran indiferencia a los estímulos del mundo externo y, es una actitud general, permanecer postrados sobre la cama, debido a la debilidad. Otros rasgos importantes son: alteraciones del cabello, resequedad de la piel, problemas del sistema circulatorio (hipotensión, disminución de la frecuencia cardíaca y tiempo de circulación prolongado), una anemia generalizada y diarrea permanente.

### **El papel de la fibra dietética en la dieta**

La fibra dietética (FD) es definida como los componentes endógenos de los materiales de plantas en la dieta que son resistentes a la digestión enzimática humana (Anderson, 1987). Está básicamente formada por lignina, celulosa y sustancias relacionadas a la hidrólisis o digestión por medio de las enzimas alimentarias del humano. En su estado natural, las fibras vegetales forman unidades funcionales y gran variedad de polisacáridos formados por largas cadenas de cientos de moléculas de glucosa o con la presencia de otros azúcares, en forma lineal, o con ramificaciones y con diferentes pesos moleculares. Estos polisacáridos se encuentran mezclados entre sí, en forma muy compleja, lo que dificulta su clasificación química y estructural (Eastwood, 1973).

Aunque las necesidades de FD están relacionadas con la edad, el sexo y el aporte energético tanto en niños como en adultos, las recomendaciones actuales están en 14 g/1.000 kcal. Teniendo en cuenta que las necesidades calóricas medias de la mujer adulta son de unas 2.000 kcal/día y las del varón de 2.600 kcal/día, la dosis de FD recomendada sería de 28 g/día para la mujer y de 36 g/día para el varón. Estas dosis están basadas en los niveles de ingesta en los que se ha observado protección contra la enfermedad cardiovascular en estudios clínicos y epidemiológicos (Anderson *et. al.*, 2009).

Varias investigaciones han reportado que la gente que vive en distritos rurales (por ej. Zonas rurales de África), que se alimenta productos vegetales no refinados y por lo tanto, ricos en fibra dietética, muestran una baja tasa de constipación intestinal, enfermedad diverticular, cáncer de colon, diabetes mellitus, arterioesclerosis, principalmente. Por otra

parte, estas enfermedades son relativamente frecuentes en Occidente y zonas conurbanas, las cuales, son deficientes en fibra dietética (Wisker *et. al.*, 1985). Por lo tanto, la falta de este tipo de compuestos en la dieta se ha visto directamente relacionada a un aumento en la probabilidad de desarrollar enfermedades cardíacas, accidentes cerebro – vasculares, síndrome metabólico y cánceres del tracto digestivo.

## Clasificación

La fibra dietética puede clasificarse de acuerdo a su solubilidad en agua como solubles e insolubles. Sus propiedades y efectos fisiológicos están determinados principalmente por las proporciones que guardan estas dos fracciones, sin importar su origen (Sánchez, 2005).

- **Fibra Soluble.** La fibra soluble forma una dispersión en agua; la cual conlleva a la formación de geles viscosos en el tracto gastrointestinal, presentando la propiedad de retardar la evacuación gástrica. En algunos casos, puede ser saludable, haciendo más eficiente la digestión y absorción de alimentos y generando mayor saciedad. Este tipo de fibra es altamente fermentable y se asocia con el metabolismo de carbohidratos y lípidos (De la Llave, 2004).
  
- **Fibra Insoluble.** La fibra insoluble aumenta el volumen de las heces hasta 20 veces su peso, debido a su capacidad de retención de agua, y se relaciona con la protección y alivio de algunos trastornos digestivos como estreñimiento y constipación (Zambrano, *et. al.*, 1998). Esta fibra no se dispersa en agua, está compuesto de celulosa, hemicelulosas y ligninas (Priego, 2007).

La fibra insoluble está relacionada a la prevención de arterioesclerosis, ataques cardíacos y embolias cerebrales; mejoramiento de la función intestinal y prevención de diabetes. Entre los principales tipos de fibra soluble se pueden encontrar las gomas, pectinas,  $\beta$  - glucanos, inulinas (fructooligosacáridos), mucílagos, principalmente.

## **Efectos sobre el organismo**

### **Acción sobre lípidos séricos y colesterol**

Son numerosas las publicaciones que demuestran los efectos positivos de la FD en la prevención del riesgo cardiovascular. Sin embargo, son pocos los estudios que han investigado en este campo el mecanismo de acción de la fibra.

Los efectos fisiológicos de la FD sobre el metabolismo del colesterol no se conocen con exactitud. Se sabe que la primera acción de la fibra soluble tiene lugar en la luz intestinal, actuando principalmente sobre la capacidad de la fibra para unirse a los ácidos biliares, formando micelas y aumentando la excreción de los mismos. Alternativamente, se ha indicado que la fibra puede formar una fina capa en la luz intestinal, que actúa como barrera física disminuyendo la reabsorción de grasas, incluyendo colesterol y ácidos biliares.

Las alteraciones producidas por estos polímeros en la homeostasis de los ácidos biliares al interrumpir su circulación enterohepática, aumentan la conversión en el hígado de colesterol en ácidos biliares, disminuyendo los depósitos de colesterol libre hepático. Para restaurar estos depósitos se produce una regulación al alza de los receptores de LDL, dando lugar a una disminución del colesterol- LDL plasmático (Theuwsen *et. al.* 2008; Fernández, 2001).

Por otra parte, la fibra soluble al sufrir la fermentación por bacterias entéricas del colon, produce ácidos grasos de cadena corta, como son el acetato, propionato y butirato, principalmente. La acción de éstos es la supresión de la síntesis de colesterol en el intestino (Hara *et. al.*, 1999). Este efecto se relaciona con el resultado de estudios recientes que comprueban que los ácidos grasos de cadena corta, principalmente el propionato y el butirato, regulan la baja expresión de nueve genes implicados en la biosíntesis intestinal de colesterol (Alvaro *et. al.*, 2008).

A su vez, la FD puede presentar un efecto antihipertensivo. El proceso no está completamente dilucidado pero se sabe que puede estar en relación con el beneficio que presenta sobre otros factores de riesgo cardiovascular, como el descenso de proteína reactiva C (Vos *et. al.*, 2007).

## **Diabetes y fibra dietética**

Los mecanismos por los que la FD influye en la disminución del riesgo de diabetes, así como sobre el padecimiento, parecen ser los siguientes:

- 1) Disminución de la glucosa postprandial y aumento de la sensibilidad a la insulina: la fibra retrasa el paso del alimento desde el estómago al duodeno y aumenta la viscosidad del contenido intestinal, lo que sobrelleva un mayor tiempo de tránsito intestinal y por ende, en la absorción de carbohidratos, disminuyendo la glucosa postprandial y la respuesta de insulina. Como la FD suele tener un bajo índice glucémico, también contribuye al menor aumento de glucosa postprandial y de demanda de insulina (Aleixandre y Miguel, 2008; Koh-Banerjee y Rimm, 2003). A su vez, otros estudios demuestran que el consumo de FD se asocia positivamente con la sensibilidad a la insulina e inversamente con la insulina en ayunas (Casas-Agustench *et. al.*, 2009; Liese *et. al.*, 2005). Los sujetos con resistencia a la insulina desarrollan frecuentemente diabetes tipo 2, por lo que las dietas ricas en FD contribuirían a reducir el posible riesgo a padecerla.
- 2) Saciedad y disminución de peso: numerosas investigaciones han comprobado un aumento de la saciedad postprandial posteriormente a la ingesta de FD, tanto soluble como insoluble (Howarth *et. al.*, 2001), aunque en algunos tipos de FD no se ha evidenciado este efecto (Howarth *et. al.*, 2003). Otro punto a notar es que la FD fermentable aumenta la secreción intestinal del péptido glucagon-like1, el cual parece influir en la regulación de la saciedad postprandial (Aleixandre y Miguel, 2008; Weickert y Pfeiffer, 2008).

Además, se ha referido una relación inversa entre el consumo de FD y el peso corporal, que ayudaría a reducir tanto el riesgo de obesidad como de diabetes (Ludwig *et. al.*, 1999; Papanikolaou y Fulgoni, 2008).

## **La desnutrición en México**

En los últimos 20 años, México ha cambiado drásticamente sus estadísticas de desnutrición, pasando de niveles importantes de desnutrición aguda (emaciación) y la prevalencia de baja talla en niños menores de 5 años a un índice de sobrepeso y obesidad considerado una epidemia, además de presentar un sesgo cada vez mayor entre estado nutricional de los estados

del norte de la República comparados con los del sur y zonas con una alta densidad de población indígena (SEDESOL, 2008).

Debido a estos problemas, México presenta una situación nutricional por debajo de lo esperado para su nivel de desarrollo. La desnutrición crónica sigue siendo un reto para la salud pública del país, teniendo estadísticas dispares en el nivel de nutrición de infantes según la zona geográfica. Por otro lado, se tiene una epidemia de sobrepeso y obesidad, con datos de que 1 de cada 3 personas entre 20 y 49 años tiene un índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 30 (ENSANUT, 2006; SEDESOL, 2008).

Datos de la UNICEF indican que aproximadamente el 43% de la población mexicana sufre de algún tipo de malnutrición, ya sea por deficiencia de proteínas, hierro, vitamina A y algunas vitaminas del complejo B. Según datos de la Secretaría de Salud (SSA), indican que en el país existen 2.4 millones de niños mexicanos que tienen un retardo importante en su crecimiento, de los cuáles, alrededor del 85% viven en el centro y sur del país (ONU).

En las condiciones específicas de México ha quedado bien establecido que el principal problema de desnutrición, por lo demás consecuencia directa de las condiciones de marginación y pobreza, es la que acontece en los primeros años de la vida, es decir la desnutrición infantil o preescolar. Asociada estrechamente a la desnutrición preescolar se ubica la desnutrición materna. Otras formas de desnutrición tienen lugar en menor escala, muchas veces son consecuencia de la desnutrición en edad temprana o están asociados a estados patológicos.

La desnutrición infantil en México no es consecuencia mecánica de la escasa disponibilidad de alimentos en el hogar, ya que no es raro encontrar en una misma familia la coexistencia de preescolares desnutridos con adultos y escolares obesos; esta condición se observa cada vez con mayor frecuencia en familias de bajo ingreso (Peña y Bacallao, 2000).

Por otro lado, en la última década, la obesidad se ha constituido como una epidemia silenciosa que abarca diferentes ámbitos sociales y de salud pública, principalmente en las poblaciones escolares, adolescentes y adultos jóvenes. Este desequilibrio es frecuentemente consecuencia de la ingestión de dietas bajas en fibra con alta densidad energética, y bebidas azucaradas, en combinación con una escasa actividad física (Cantón 2011).

México es el país con mayor índice de sobrepeso, y segundo lugar mundial en obesidad en mayores de 15 años, apenas por debajo de los Estados Unidos de América (Aguilar, *et. al.*, 2004). Distintos estudios reportan que la prevalencia de obesidad en población de 30 y 60 años de edad es de alrededor del 70% (Olaiz, *et. al.*, 2006).

Viendo ésto, tanto el gobierno como la industria alimentaria del país han hecho esfuerzos para aminorar estos problemas de salud mediante programas de fortificación de alimentos de alto alcance, como de leche (Liconsa) o de tortillas (Maseca®) pero aún resta mucho que realizar, ya que el mexicano promedio sigue sufriendo de bajos niveles de proteína y de ciertos micronutrientes, así como de fibra dietética en la dieta (ENSANUT, 2006).

### **Fuentes alternativas de nutrientes para disminuir la desnutrición en México.**

De los apartados anteriores podemos citar 2 grandes áreas de oportunidad para fortificar la tortilla de maíz nixtamalizado para que llegue a ser un alimento completo y de fácil alcance para toda la población mexicana:

- Enriquecimiento con una fuente proteica.
- Enriquecimiento con una fuente de fibra dietética.

Debido a esto, se propone que ambas fortificaciones sean dadas por harinas de cultivos propios de nuestro país, como lo son el amaranto (*Amaranthus spp*) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*), rico en proteína de alto valor biológico, y nopal (*Opuntia ficus-indica*), fuente importante de fibra dietética; además de una harina de un alga cosmopolita y presente de forma natural en aguas nacionales, la *Ulva clathrata*, la cual presenta características funcionales y sensoriales de interés científico y comercial.

Cada uno de los materiales biológicos será descrito a continuación.

## Fuentes de proteína

### Amaranto (*Amaranthus spp*)

El amaranto de grano (*Amaranthus spp.*) se domesticó en América hace más de 4000 años por culturas precolombinas y de allí posiblemente se difundió a otras partes del mundo. Fue cultivada y utilizada junto al maíz, frijol y calabaza por los aztecas en el valle de México, por los mayas en el sur de México y Guatemala y por los incas en Sudamérica tanto en Perú, Bolivia como Ecuador junto a la papa, maíz y quinoa.

El género *Amaranthus* contiene más de 70 especies, de las cuales la mayoría son nativas de América y sólo 15 especies provienen de Europa, Asia, África y Australia. Sólo tres especies de amaranto se utilizan actualmente para la producción de grano: *A. cruentus* L., *A. caudatus* L. y *A. hypochondriacus* L.

El amaranto es una especie anual, herbácea o arbustiva de diversos colores que van del verde al morado o púrpura con distintas coloraciones intermedias. La raíz es pivotante con abundante ramificación y múltiples raíces delgadas, que se extienden rápidamente después que el tallo comienza a ramificarse, facilitando la absorción de agua y nutrientes. El tallo es cilíndrico y anguloso con gruesas estrías longitudinales que le dan una apariencia acanalada, alcanza de 0.4 a 3 m de longitud, cuyo grosor disminuye de la base al ápice, presenta distintas coloraciones que generalmente coincide con el color de las hojas, aunque a veces se observa estrías de diferentes colores. Las hojas son pecioladas, sin estípulas, de forma oval, elíptica, opuestas o alternas con nervaduras prominentes en el envés, lisas o poco pubescentes de color verde o púrpura cuyo tamaño disminuye de la base al ápice, presentando borde entero, de tamaño variable de 6.5-15 cm (Tapia, 1997).

La inflorescencia del amaranto corresponde a panojas amarantiformes o glomeruladas muy vistosas, terminales o axilares, que pueden variar de totalmente erectas hasta decumbentes, con colores que van del amarillo, anaranjado, café, rojo, rosado, hasta el púrpura; el tamaño varía de 0.5-0.9 m pudiendo presentar diversas formas complejas.

El fruto es una cápsula que se abre transversalmente y contiene una sola semilla blanca, lisa y brillante, ligeramente aplanada y del tamaño de un grano de mostaza. El rendimiento en volumen de una planta de amaranto es casi igual que la de maíz, aunque en condiciones

óptimas se puede llegar tener una producción de 2,000 a 4,000Kg por hectárea (Aguirre, 1996).

En México, su producción y su uso se realizó casi a la par que a la del maíz, hace más de 5,000 años por los primeros pobladores de Mesoamérica, los cuáles elaboraban atoles y tamales de amaranto, además de considerarlo parte primordial en ritos y ceremonias religiosas autóctonas; razón por la cual, a la llegada de los españoles, se declinó su uso por considerarse pagano. En la actualidad, se usa el grano entero o molido en forma de harinas, ya sea tostada, reventada o hervida, las hojas tiernas en reemplazo de las hortalizas de hoja. Con los granos enteros o molidos se puede preparar desayunos, sopas, postres, papillas, tortas, budines, bebidas refrescantes y otros; los granos reventados se consumen mezclados con miel de abejas, miel de caña o chocolate, dándole diferentes formas en moldes de madera o metálicos a las que se conoce como turrónes de kiwicha en Perú, "alegría" en México y "tadoos" en India.

En la elaboración de productos a base de harina de trigo, se han obtenido resultados positivos, tanto tecnológica como sensorialmente, al incluir harina de amaranto en las formulaciones para pan (Brümmer y Morgenstern; 1992), así como en la fabricación de espagueti (Rayas-Duarte *et. al.*, 1996), sin cambios importantes en color, sabor y calidad, a la par de obtener una mayor cantidad de lisina y proteína. Con referente a la producción y elaboración de tortillas; se ha estudiado la inclusión de harina de amaranto para la producción de tortillas de trigo, obteniendo resultados favorables, tanto a nivel laboratorio como nivel piloto (Aguirre, 1996), así como con tortillas de maíz con amaranto entre un 10 y 20% de inclusión con alto nivel de proteína e índice glicémico (Islas-Hernández *et. al.*, 2007).

Dentro de los atractivos de utilizar el grano de amaranto para nutrición es que el grano contiene entre 14 - 18% de proteína, lo cual supera a cualquiera de los cereales; además de ser rico en ácidos grasos poliinsaturados y con un contenido considerable de fibra soluble. En la Tabla 2 se detalla su composición química en base seca.

**Tabla 2. Composición química proximal de la semilla del amaranto (*Amaranthus spp*) en base seca.**

<b>Componente químico</b>	<b>Grano (%)</b>
<b>Proteína</b>	14 – 18
<b>Extracto etéreo</b>	6.5 – 12.5
<b>Fibra cruda</b>	3.9 – 17.8
<b>Cenizas</b>	3.2 – 3.9
<b>Carbohidratos</b>	56 – 78

Fuente: Paredes-López, 1994; Segura-Nieto, 1994.

A diferencia de los cereales, la proteína del grano de amaranto se encuentra dentro del germen y en la capa de aleurona que rodea al endospermo almidonoso (Irving, 1981), presentando albuminas y globulinas ricas en lisina y valina, así como prolaminas ricas en fenilalanina y aminoácidos azufrados y glutelinas ricas en leucina, treonina e histidina (Barba de la Rosa *et. al.*, 1992). Esta distribución puede ser debido al alto contenido de proteína en la semilla. Estos y otros estudios demuestran el contenido alto de lisina (4.8 – 6.4 g/100g de proteína), triptófano (1.0 – 4.0 g/100g de proteína) y aminoácidos sulfurados (3.7 – 5.5g/ 100g de proteína) (Tabla 3), comparados con las referencias de la FAO/WHO/ONU (Irving, 1981; Bressani, 1989). Esto contrasta en gran medida con los tres cereales más consumidos, principalmente el maíz, que es deficiente en lisina y triptófano, así como para complementar el valor aminoacídico de leguminosas (Bressani, 2006), por lo que una suplementación con harina de amaranto podría disminuir este problema tan frecuente en poblaciones dependientes del maíz como fuente de energía.

Además de proteína de alto valor biológico, el grano de amaranto presenta una proporción de 56 – 78% de extracto libre de nitrógeno, lo que representa técnicamente al total del almidón presente en el grano. Este almidón se presenta en gránulos de tamaño muy pequeño, con una gran capacidad de absorber agua (Aguirre, 1996).

Con respecto a los demás nutrientes, el grano de amaranto contiene entre un 6.5 – 12.5% de lípidos, que comparándolo con otros cereales, es relativamente alto (Paredes-López, 1994).

El aceite de grano de amaranto contiene un alto grado de insaturación; entre un 53 – 95% de ácido linoleico y oleico, 0.3 – 1.3% de ácido linolénico y 2.2. – 5.4% de ácido esteárico (Paredes-López, 1994). La importancia nutracéutica de estos ácidos grasos poliinsaturados está bien comprobada, ya que una deficiencia resulta en una atrofia linfoide y una depresión del sistema inmunológico.

**Tabla. 3. Contenido de aminoácidos esenciales en la proteína de grano de amaranto (*Amaranthus spp*).**

<b>Aminoácido esencial</b>	<b>g/100g de proteína</b>
<b>Histidina</b>	2.4 – 3.2
<b>Isoleucina</b>	3.5 – 4.1
<b>Leucina</b>	5.0 – 6.3
<b>Lisina</b>	4.8 – 6.4
<b>Metionina + Cisteína</b>	3.7 – 5.5
<b>Fenilalanina + Tirosina</b>	7.1 – 9.1
<b>Treonina</b>	3.3 – 4.6
<b>Triptófano</b>	1.0 – 4.0
<b>Valina</b>	3.2 – 4.8

Fuente: Paredes-López, 1994; Segura-Nieto, 1994.

El contenido de fibra cruda varía entre un 3.9 – 17.8% del peso del grano, dependiendo de la especie. Ésta está compuesta por lignina, celulosa, además de hemicelulosa, pectina, gomas y otros carbohidratos. El efecto fisiológico de esta fibra ha sido documentado en estudios con ratas de laboratorio, observando un decremento en los niveles de colesterol (Danz, 1992; Chaturvedi, 1993).

El contenido de micronutrientes también es importante. La niacina y la tiamina se presentan en valores inferiores a cereales como el maíz pero la riboflavina y el ácido ascórbico en el grano de amaranto exceden el de una gramínea promedio, ya que 100g de semilla de

amaranto aporta entre el 12 – 25% de los requerimientos de vitamina C. con respecto a vitaminas liposolubles, la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) es la que se encuentra en mayor cantidad, pudiendo satisfacer entre un 17 – 45% del requerimiento diario (Muñoz de Chávez *et. al.*, 1995). En lo que a minerales se refiere, las sales de Fósforo y Potasio son las que se encuentran en mayor proporción, siguiéndole en cantidad las sales de Magnesio y Calcio (Muñoz de Chávez *et. al.*, 1995).

Otro factor a considerar, es el posible efecto nutracéutico de esta materia prima, ya que presenta flavonoides específicos, como la rutina, además de ácidos fenólicos como ácido gálico (400 – 440 mg/Kg peso seco de semilla), ácido p – hidroxibenzoico y ácido vainílico, todo con efecto antioxidante (Pasko *et. al.*, 2008).

Debido a los puntos señalados en esta sección, se puede observar su potencial como suplemento para la fortificación de harina de maíz nixtamalizado, ya que traería resultados positivos, tales como disminución considerable de los niveles de desnutrición existente en nuestro país, además de hacer uso de una materia prima procedente de nuestra región, estimulando su producción y desarrollo como producto.

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

La dieta de las culturas indígenas antes de la llegada de los españoles se basaba principalmente en 4 diferentes cultivos: maíz, chile, calabaza y frijol. Este último era de gran importancia debido a que era la fuente principal de proteína que presentaba su dieta, ya que los productos animales no jugaban un papel importante como fuente de nutrientes.

Dentro de la variedad de especies de frijol, el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) presenta una mayor aceptación de parte de la población, aún desde tiempos precolombinos, siendo así la más extendida y consumida tanto en América como en otras regiones del mundo. Esta leguminosa juega aún todavía un papel muy importante en la obtención de proteína, ya que es un alimento básico en los estratos sociales más bajos, que junto con el maíz, son las principales fuentes de energía (ENSANUT, 2006).

El frijol es una planta herbácea de la familia de las Leguminosas, que crece como enredadera, tanto de forma silvestre como cultivada, que puede variar entre 40 cm y 3 m de longitud. Sus raíces presentan una asociación simbiótica con bacterias nitrificantes (micorrizas), razón que ayuda a la fijación de nitrógeno en la planta. En la base de las hojas sobre el tallo se presenta un par de hojillas, llamadas estípulas, estriadas; las hojas son alternas, pecioladas, compuestas con 3 folíolos de forma rómbica, con el ápice agudo; en la base de cada folíolo se encuentra un par de diminutas estípulas, llamadas estípelas. Presenta pocas flores dispuestas sobre pedúnculos más cortos que las hojas, de donde se genera la legumbre de forma lineal, de hasta 20 cm de largo (Isely, 1990).

De la planta de frijol se pueden consumir como alimento varias partes de la planta; las hojas y vainas inmaduras pueden ser ingeridas como verduras pero la parte que presenta mayor importancia nutrimental es la semilla, debido a su alto contenido de proteína y de fibra (Tabla 4).

La proteína del frijol, en su mayoría formada por albúminas solubles en agua y globulinas (Sathe, 2002), presenta importantes cantidades de aminoácidos aromáticos, lisina leucina e isoleucina. Sin embargo, es deficiente en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), valina, triptófano y treonina, en comparación con la proteína de referencia de FAO/OMS. En la dieta del mexicano, los frijoles se consumen habitualmente con tortillas de maíz, lo que supone una complementación de ambas proteínas, originando una proteína de alto valor nutricional. Sin embargo, su utilización biológica se ve afectada por la presencia de factores inhibidores de su absorción, tales como taninos, lectinas, inhibidores de tripsina y ácidos fítico, aunque hay que resaltar que la mayor parte de éstos son termolábiles, por lo que su capacidad inhibitoria se reduce significativamente con el tratamiento térmico. Este a la vez aumenta la disponibilidad de aminoácidos azufrados presentes en altas concentraciones en los inhibidores de tripsina (Serrano y Goñi, 2004). Al mismo tiempo, una fortificación con proteínas ricas en aminoácidos azufrados (como proteína de amaranto o quinoa) puede proporcionar un mayor valor biológico.

La digestibilidad aparente de la proteína es alrededor de 68.8%, siendo la valina el aminoácido menos disponible, mientras que la lisina es el más biodisponible (Torún *et. al.*, 1996). La digestibilidad *in vitro* de su proteína oscila entre 82.1 - 89.1% para frijol cocido y entre 76 - 82.2% en frijol crudo (Pérez-Herrera *et. al.*, 2002). Por lo tanto, se infiere que es una buena fuente de aminoácidos esenciales, así como su complementación con la proteína del maíz.

**Tabla 4. Composición química proximal de la harina del frijol (*Phaseolus vulgaris*).**

<b>Componente químico</b>	<b>Harina (%)</b>
<b>Proteína</b>	22.50
<b>Extracto etéreo</b>	2.10
<b>Fibra cruda</b>	4.60
<b>Cenizas</b>	2.60
<b>ELN</b>	59.10
<b>Humedad</b>	9.10

Fuente: Muñoz de Chávez, 1996.

Otro punto importante en nutrición es la fracción del extracto libre de nitrógeno presente, rica en carbohidratos complejos, almidón y fibra dietética, con una baja cantidad de mono y disacáridos. Debido a esto y a la naturaleza de su almidón (almidón resistente a la digestión), presenta un bajo índice glicémico, con un valor entre 20 – 28 (Foster-Powel *et. al.*, 2002). Además, la presencia de taninos y fitohemagluteninas pueden coadyuvar al mismo. La presencia de fibra soluble (2.14% del total de carbohidratos) es fermentada por la flora bacteriana del intestino grueso, lo que genera ATP, gases y ácidos grasos de cadena corta, asociados al decremento del colesterol sanguíneo, ejerciendo un efecto cardioprotector (Brown *et. al.*, 1999).

El contenido en grasa del frijol es bajo, siendo el ácido linoleico el más abundante. Gran parte del extracto etéreo son fosfolípidos (25-35% del contenido total), que han demostrado tener un potente efecto hipolipemiante, incluso a bajas concentraciones (Kirsten *et. al.*, 1993; Iniestra-González *et. al.*, 2005).

Se ha observado en el frijol importantes cantidades de calcio, hierro y fósforo, aunque estos dos últimos son poco biodisponibles, debido a que forman parte de fitatos y otros compuestos antinutricionales (Abd Ei-Hardy, 2003). Por otro lado, presenta importantes cantidades de ácido fólico (463mcg/100g de frijol), vitamina de gran importancia en la dieta, sobretodo en mujeres de edad fértil debido al papel neurológico y fisiológico que presenta en la etapa de gestacional del feto.

Por último, el alto contenido de polifenoles en frijol común ha tomado importancia en los últimos años, debido al impacto positivo de éstos contra enfermedades crónico – degenerativas. Dentro de los compuestos presentes se encuentran 3 – O – glucósidos como delfinidina, petundina y malvidina, kaempferol, quercetina, tanto en esta forma como diglicósidos y malonatos (Lin *et. al.*, 2008).

Con estos datos, se puede inferir el gran impacto dado en la dieta y el potencial nutracéutico que presenta el frijol al añadirlo a un alimento de alto alcance como la tortilla para atacar problemas de salud pública como los que presenta México: bajo consumo de proteína de buena calidad y bajo consumo de fibra dietética.

## **Fuentes de fibra dietética**

### **Nopal (*Opuntia ficus-indica*).**

El interés del ser humano por los nopales (*Opuntia ficus-indica*) data de miles de años. Su origen e historia están íntimamente relacionados con las antiguas civilizaciones mesoamericanas, en particular con la cultura Azteca. Existen evidencias arqueológicas que permiten afirmar que fueron las poblaciones indígenas asentadas en las zonas semiáridas de Mesoamérica las que iniciaron su cultivo de modo formal (Sáenz, 2006).

Los nopales están ligados de modo particular a la historia de México y Mesoamérica, su centro de origen genético. La evidencia del conocimiento y uso del nopal por los primeros pobladores mexicanos se encuentra en las excavaciones de Tamaulipas y Tehuacán, Puebla, donde se encontraron fosilizadas semillas y cáscaras de tuna, así como fibras de pencas de nopal, de una antigüedad de 7,000 años (Flores-Valdez, 2003). Desde México fue llevado a España durante la época de la Colonia y así se diseminó por toda la costa del Mediterráneo, África Sub-Sahariana, Arabia, Sudáfrica, hasta llegar a Australia.

Botánicamente, los nopales pertenecen a la familia de las Cactáceas. La taxonomía de los nopales es sumamente compleja debido a múltiples razones, entre otras porque sus

fenotipos presentan gran variabilidad según las condiciones ambientales, se encuentran frecuentemente casos de poliploidía, se reproducen en forma sexual o asexual y existen numerosos híbridos interespecíficos.

Los nopales son plantas arbustivas, rastreras o erectas que pueden alcanzar 3,5 a 5 m de altura. El sistema radical es muy extenso, densamente ramificado, rico en raíces finas absorbentes y superficiales en zonas áridas de escasa pluviometría. La longitud de las raíces está en relación con las condiciones hídricas y con el manejo cultural, especialmente el riego y la fertilización (Sudzuki, 1999; Villegas y de Gante, 1997).

Los tallos suculentos y articulados o cladodios, comúnmente llamados pencas, presentan forma de raqueta ovoide o alargada alcanzando hasta 60-70 cm de longitud, dependiendo del agua y de los nutrientes disponibles (Sudzuki *et. al.*, 1999). Cuando miden 10-12 cm son tiernos y se pueden consumir como verdura. El aumento del área del cladodio dura alrededor de 90 días. Sobre ambas caras del cladodio se presentan las yemas, llamadas aréolas, que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios, flores y raíces aéreas según las condiciones ambientales (Sudzuki *et. al.*, 1999).

Las aréolas presentan en su cavidad espinas, que generalmente son de dos tipos: algunas pequeñas, agrupadas en gran número (gloquidios) -en México comúnmente se llaman aguates- y las grandes que son, según algunos botánicos, hojas modificadas (Granados y Castañeda, 1996)

Los cladodios, por su parte tienen interés desde el punto de vista industrial ya que cuando los brotes son tiernos (10-15 cm) se usan para la producción de nopalitos, y cuando están parcialmente lignificados (cladodios de 2-3 años), para la producción de harinas y otros productos, debido a que varían en su composición química (Tabla 5).

Los nopales, al igual que otras verduras, contribuyen con una alta proporción de agua a la dieta y son altamente cotizados por su contenido en fibra. Al igual que otras hortalizas, los nopales como verdura tienen un alto contenido de agua (90,1%), bajo contenido de lípidos (0.3%), hidratos de carbono (5.6%) y proteínas (1.7%) y alto contenido de fibra (3,5%) (Muñoz de Chávez *et. al.*, 1995). El contenido de esta última es comparable al de varias frutas y hortalizas, entre ellas la espinaca, la alcachofa, la acelga, la berenjena, el brócoli, el

rábano y otras. Entre las frutas, es similar al mango, al melón, al damasco y a la uva (Zambrano *et. al.*, 1998; Ruales y Zumba, 1998). El nopal presenta tanto fibra insoluble (celulosa, lignina, principalmente) como cantidades considerables de fibra soluble (pectina, mucílagos y derivados), que aportan un valor adicional al producto. Este producto, en forma de harina, presento 43% de fibra dietética total, de la cual 28,45% es fibra insoluble y el 14,54% es soluble (Saenz *et. al.* 1997) El efecto fisiológico de la fibra dietética de nopal ha sido comprobado en estudios clínicos tanto con ratas hipercolesterolémicas (Cárdenas, 1996) como con humanos con síndrome metabólico (Leceraux, 2008), en dónde se han obtenido resultados positivos en la reducción de peso, colesterol total y colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL), observando un mayor efecto en los tratamientos que usaban nopal crudo y/o en forma de harina, comparado con el uso del nopal cocido (Cárdenas, 1996; Leceraux, 2008).

**Tabla 5. Composición química de cladodios de *Opuntia ficus-indica* de distintas edades (porcentaje materia seca)**

Edad (años)	Producto	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	Fibra cruda (%)	ELN (%)
0 – 5	Nopalitos	9.4	1.00	21.0	8.0	60.6
1	Penca	5.4	1.29	18.2	12.0	63.1
2	Penca	4.2	1.40	13.2	14.5	66.7
3	Penca	3.7	1.33	14.2	17.0	63.7
4	Tallos suberificados	2.5	1.67	14.4	17.5	63.9

Fuente: (Sáenz, 2006)

Además del alto contenido de fibra dietética, su contenido de minerales también es alto, principalmente de Calcio y el Potasio (93 y 166 mg/100 g, respectivamente), y tienen bajo contenido de Sodio (2 mg/100 g), lo que es una ventaja para la salud humana. Su alto contenido en Calcio, los hacen muy interesantes por la importancia de este mineral en el mantenimiento de la estructura ósea del cuerpo, pero es un problema que debe ser más investigado. En un estudio efectuado en nopales señalan que el Calcio en los nopales presente no estaría disponible para la utilización por el cuerpo humano, ya que se encuentra

bajo forma de cristales de Oxalato de Calcio (McConn y Nakata, 2004). Contiene, además, cantidades moderadas de carotenoides (30 µg/100 g) y de vitamina C (11 mg/100 g) (Sáenz, 2006).

Tecnológicamente, se ha estudiado su efecto en la adición a harinas de maíz nixtamalizadas, obteniendo resultados favorables en un 10% de adición en tortillas y 15% en tostadas de maíz (Barrales y González, 2009). Por lo tanto, los nopales son materia prima a considerar para la industrialización no solo por sus frutos y cladodios sino que además existen en estas plantas valiosos y atractivos compuestos funcionales que pueden ser extraídos y utilizados para formular y enriquecer nuevos alimentos, para formar parte de la cada vez más cotizada gama de aditivos naturales, tanto para la industria alimentaria como farmacéutica y cosmética; para formular suplementos alimenticios, ricos en fibra o con fines de control de la diabetes o la obesidad, o ser añadido en alimentos de alto alcance, como la tortilla de maíz nixtamalizado, para disminuir problemas de salud asociados a la falta de fibra dietética.

### ***Alga Ulva clathrata***

El empleo de las algas marinas en la alimentación humana y animal es una práctica que se remonta a hace muchos siglos. En la actualidad en los países orientales es donde su consumo está más extendido. En países de Asia, como Japón, China, Hong Kong, Taiwán, Filipinas y otros países como Francia, Escocia, Perú, Chile, Jamaica, entre otros, las algas marinas se emplean en la alimentación humana (Zemke-White y Ohno 1999). En lo que respecta a México, su uso se ha circunscrito principalmente como materia prima para la obtención de ficocoloides, los cuales se emplean en la industria textil, química y alimentaria (Aguila-Ramírez *et. al.*, 2005).

Una de ellas es la *Ulva clathrata* o *Enteromorpha clathrata*, un alga de talo verde (Clorophyta) laminar, tubular, más estrecho de la zona basal y formado por 2 capas de células. Mide alrededor de 40 cm de longitud, muy ramificada, con “ramas” largas, algunas en forma de espina. Es de un color verde oscuro y se encuentra en la zona intermareal y submareal, adherida a rocas y piedras de la superficie. Su clasificación es difícil debido a que presenta gran similitud a otras especies del género *Ulva*, además de presentarse en hábitats de una gran diversidad ecológica.

Su distribución es muy amplia, estando presente en la mayoría de las zonas intermareales de los océanos del mundo. México, debido a su ubicación geográfica, contiene en sus amplios litorales a esta especie y una gran diversidad de especies de algas. Las principales zonas donde se distribuye *U. clathrata* en nuestro país es en las costas de la península de Baja California, encontrando grandes cantidades de biomasa (Águila-Ramírez *et. al.*, 2005) Se han realizado evaluaciones de esta alga en la costa oeste del Golfo de California, en el área de La Paz, B.C.S., donde se estimaron biomásas potenciales de 360 a 426 toneladas secas (Pacheco-Ruíz *et. al.*. 2002) las cuales no están sujetas a explotación y que son desperdiciadas año con año debido a que se les considera un problema en la zona por las altas cantidades de biomasa. Debido a esto, se han realizado investigaciones sobre la composición química, microbiológica y toxicológica de las especies del género *Ulva* en esta región, obteniendo resultados alentadores para su aprovechamiento para consumo humano y animal (Águila-Ramírez *et. al.*. 2002, Aguilera-Morales *et. al.*. 2005).

Como se puede observar en la Tabla 6, la harina de esta alga podría representar un gran aporte de nutrientes a la dieta del mexicano, conteniendo 14% de proteína cruda en promedio, 2% de lípidos, 33% de minerales y fibra cruda y alrededor de 50% de extracto libre de nitrógeno, lo que nos infiere un posible bajo índice glicémico.

**Tabla 6. Composición química proximal de la harina de *Ulva clathrata*.**

<b>Composición química</b>	<b>Harina (%)</b>
<b>Humedad</b>	6.7
<b>Cenizas</b>	32.6
<b>Proteína</b>	14.1
<b>Lípidos</b>	2.2
<b>Fibra cruda</b>	33.4
<b>ELN</b>	51.6

Fuente: Aguilera-Morales *et. al.*, 2005.

Según las investigaciones reportadas, la proteína de la harina de *U. clathrata* presenta una digestibilidad proteica hasta del 85%; con un elevado contenido de leucina, histidina,

valina, fenilalanina, treonina, arginina, lisina, isoleucina y metionina, superando al patrón de la FAO/OMS (Aguilera-Morales *et. al.*, 2005).

Por otra parte, el notable contenido de materia inorgánica que presenta esta alga. Esto es algo muy común en tales organismos debido al medio marino en que se desarrollan, que es rico en elementos minerales y a la gran capacidad que tienen las algas de almacenarlos, principalmente sales de Sodio y de Yodo (Lobban, 1994).

Aunque presenta un bajo contenido de lípidos, la mayoría de estos lípidos están en forma de ácidos grasos mono y poliinsaturados, principalmente ácido oleico y en algunos casos, ácido alfa-linolénico; además de presentar una importante cantidad de vitamina E (Ortiz *et. al.*, 2006), lo que hace atractivo su aprovechamiento para el consumo humano.

Con respecto a la concentración de fibra cruda, es importante hacer resaltar que en su mayoría es fibra dietética, obteniendo tanto fibra insoluble como fibra soluble de manera importante (Burtin, 2003). Estos valores son mayores a los reportados por la mayoría de vegetales y frutas consumidas por el mexicano promedio, por lo que denota la necesidad de realizar un estudio amplio para el desarrollo de productos ricos en fibra a partir de esta fuente que sean atractivos al consumidor, así como el hacer estudios de fortificación de alimentos de fácil acceso, como la tortilla de maíz nixtamalizado, para su mayor alcance.

## **ESTRATEGIA EXPERIMENTAL**

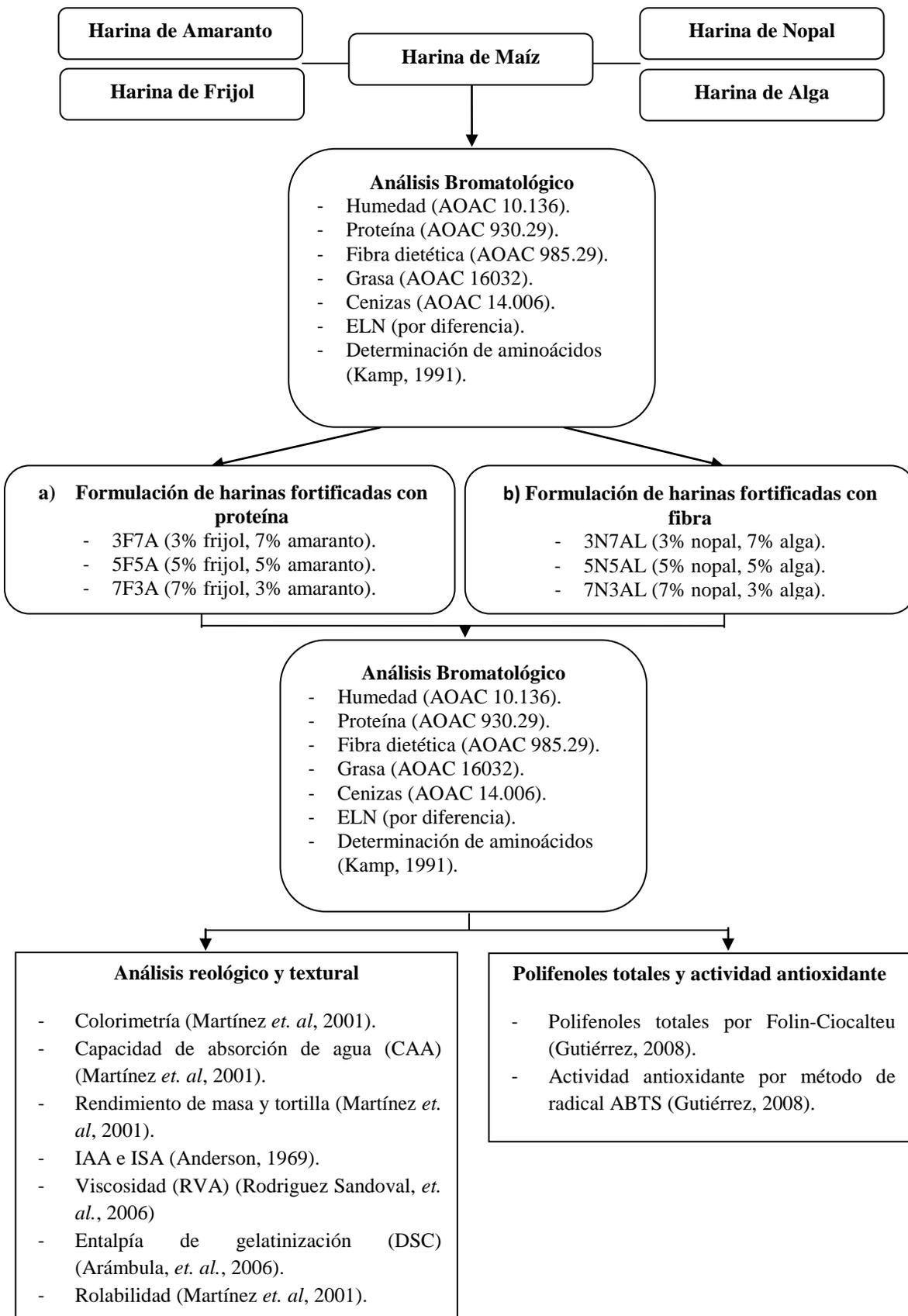
Para comprobar las hipótesis planteadas, se diseñó una estrategia experimental dividida en 3 etapas:

Etapa 1. Formulación y desarrollo de tortillas fortificadas.

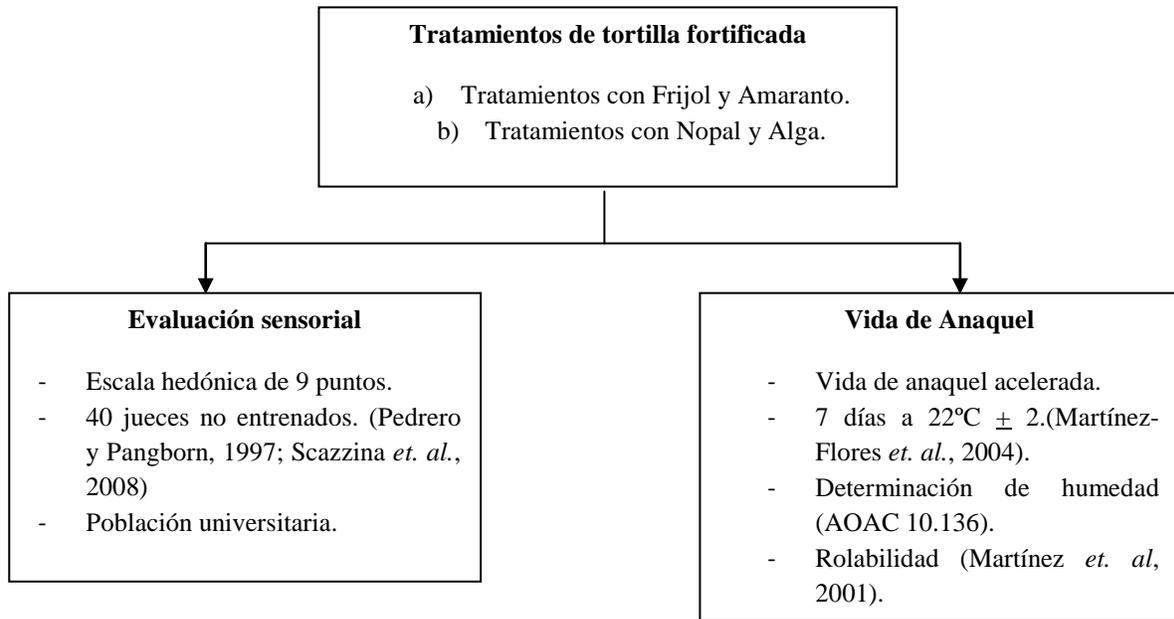
Etapa 2. Evaluación sensorial y vida útil de tortillas fortificadas.

Etapa 3. Evaluación biológica de tortillas fortificadas.

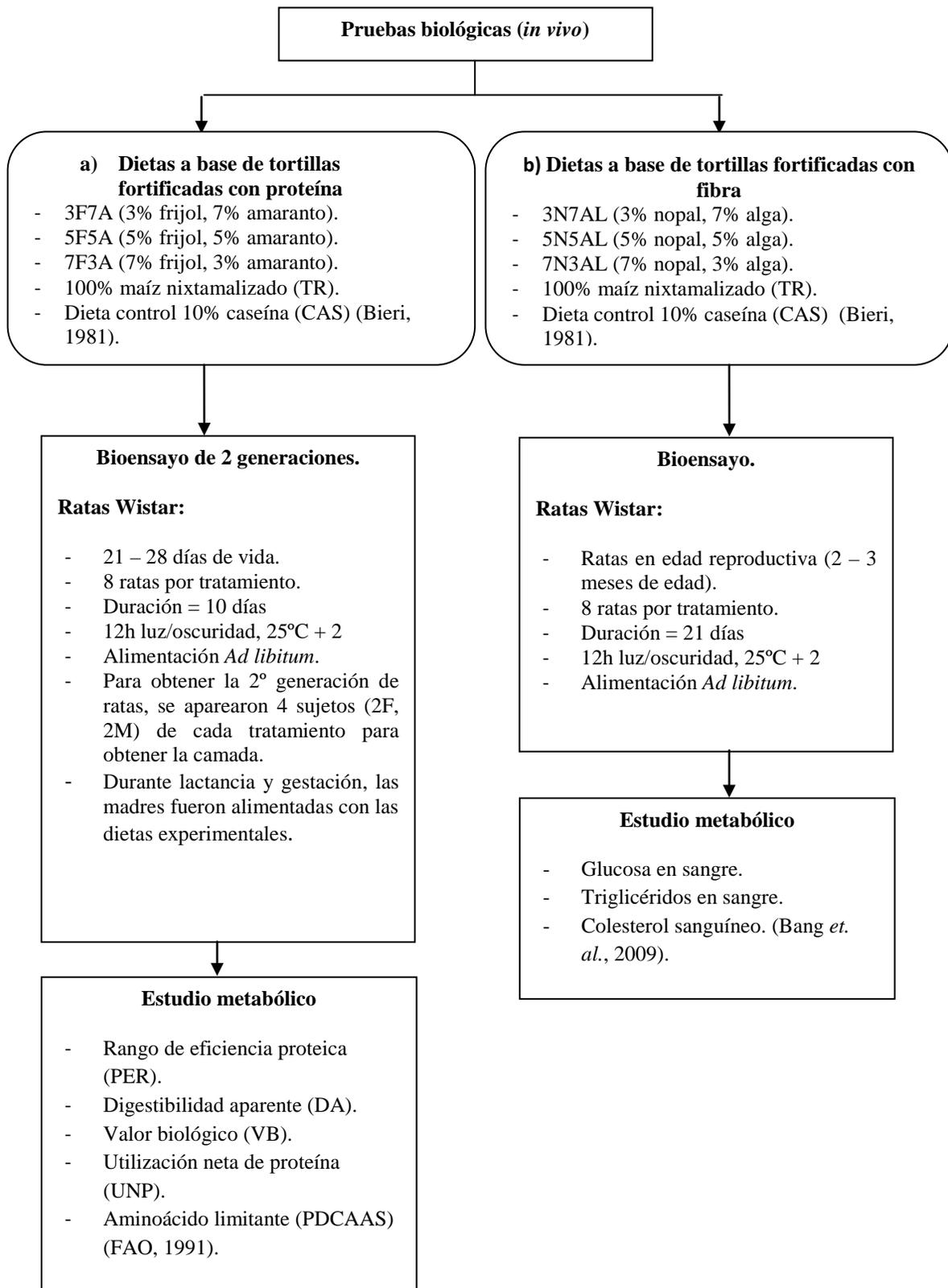
La estrategia experimental y sus diferentes etapas son detalladas en las figuras 4, 5 y 6.



**Fig 4. Etapa 1. Formulación y desarrollo de tortillas fortificadas.**



**Fig 5. Etapa 2. Evaluación sensorial y vida útil de tortillas fortificadas.**



**Fig 6. Etapa 3. Evaluación biológica de tortillas fortificadas.**

## MATERIAL Y MÉTODO

### *Materiales de estudio.*

Para obtener las formulaciones de tortilla se utilizaron:

- ❖ Harina comercial de maíz (maíz blanco nixtamalizado con cal hierro electrolítico, óxido de zinc, niacina, mononitrato de tiamina, riboflavina, ácido fólico).
- ❖ Amaranto: se compró harina de amaranto integral precocida Premium de la marca San Miguel.
- ❖ Frijol: se obtuvo a partir frijol pinto a granel. Se remojó durante 4h con agua a temperatura ambiente, se coció a 70-80°C hasta obtener un frijol con consistencia suave. A éste se le secó en un horno de convección a 60°C  $\pm$  2 hasta obtener una pasta seca y quebradiza, la cual se molió para obtener una harina malla # 40 (Reyes Moreno y Paredes López, 1993).
- ❖ Nopal: se proporcionó harina de nopal comercial de parte de una procesadora de cladodios de la región.
- ❖ Ulva: la harina de alga fue proporcionada por una empresa particular.

### *Formulación de harinas fortificadas.*

Se realizaron fórmulas con 90% de harina de maíz blanco nixtamalizado. El 10% restante se suplantó variando las proporciones de 2 harinas; realizando 2 grupos; a) fortificación de proteína vegetal de alto valor biológico y b) fortificación de fibra dietética (Tabla 7).

### *Elaboración de tortillas.*

Cada uno de los tratamientos fue mezclado en las proporciones que se mencionan en la Tabla 7. Las harinas, previamente tamizadas, fueron mezcladas con agua hasta obtener una masa suave, con humedad aproximada de 55%. Las tortillas se elaboraron en base a esta masa en una máquina tortilladora manual (Lenin, México). Se obtuvieron obleas de alrededor de 0.1 mm de ancho y 12.5  $\pm$  0.1 cm de diámetro y se cocieron.

**Tabla 7.** Grupo de formulaciones de harinas de maíz nixtamalizado fortificadas con diferentes proporciones de harina de frijol y amaranto (ricas en proteína) y nopal y alga (ricas en fibra dietética).

<b>Tratamiento</b>	<b>Formulación</b>
<b>Fortificación con proteína</b>	
<b>3F7A</b>	90% maíz, 3% frijol, 7% amaranto
<b>5F5F</b>	90% maíz, 5% frijol, 5% amaranto
<b>7F3A</b>	90% maíz, 7% frijol, 3% amaranto
<b>Fortificación con fibra</b>	
<b>3N7AL</b>	90% maíz, 3% nopal, 7% alga
<b>5N5AL</b>	90% maíz, 5% nopal, 5% alga
<b>7N3AL</b>	90% maíz, 7% nopal, 3% alga
<b>Control</b>	
<b>TR</b>	100% maíz nixtamalizado.

*Análisis fisicoquímico.*

Se realizaron análisis proximales a los diferentes tratamientos, cuantificando porcentaje de humedad, proteína, cenizas, fibra dietética, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno; todo según los métodos oficiales de la A.O.A.C. (1990) y (1997).

*Determinación de humedad.*

Método gravimétrico, método 10.136 de la A.O.A.C. (1990).

*Determinación de proteína.*

Método Kjeldhal, método 930.29 de la A.O.A.C. (1990).

*Determinación de grasa.*

Método Goldfisch, método 16032 A.O.A.C. (1990).

*Determinación de cenizas.*

Método 14.006 A.O.A.C. (1990).

*Determinación de fibra dietética.*

Método 985.29 A.O.A.C. (1997).

*Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno.*

El extracto libre de nitrógeno (ELN) está constituido por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos no nitrogenados solubles en agua. Se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{ELN} = 100 - (\text{A} + \text{B} + \text{C} + \text{D} + \text{E})$$

Dónde:

A = Contenido de humedad (%)

B = Contenido de proteína cruda (%)

C = Contenido de lípidos crudos (%)

D = Contenido de fibra cruda (%)

E = Contenido de ceniza (%)

*Determinación de Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante.*

Para la determinación de polifenoles totales y su actividad antioxidante, se realizó una extracción con agua acidificada (pH 2.1) y metanol a la muestra, para obtener dichos compuestos. El sobrenadante final fue el utilizado para ambos análisis.

### *Polifenoles totales.*

El maíz contiene numerosos nutrientes como carbohidratos (almidón y algunos carbohidratos solubles), lípidos (ácidos linoleico y oleico, principalmente), vitaminas (A, E, niacina, entre otras), minerales (fosforo y potasio principalmente) y su pericarpio presenta compuesto de carbohidratos no digeribles e insolubles, además de proteínas (Hernot *et. al.*, 2008). Dentro de estos compuestos, se pueden encontrar embebidos compuestos nutraceuticos, en específico compuestos fenólicos, que se dividen en tres categorías: flavonoides, taninos condensados y compuestos fenólicos simples, sin embargo una cantidad importante se pierde durante el procesado, principalmente en la nixtamalización (Preciado y Montes, 2011). Dichos compuestos contienen capacidad antioxidante natural, por su cualidad de atrapar radicales libres que producen daño celular (White y Xing, 2007).

Entre los métodos propuestos para medir componentes asociados al color se incluyen métodos espectrofotométricos (Boulton *et. al.*, 1999) y métodos cromatográficos (Baldi *et. al.*, 1992). Los métodos usados comúnmente para determinar y cuantificar fenoles totales en alimentos y vegetales son el ensayo de la vainillina y el de Folin-Ciocalteu.

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Gutiérrez, 2008). Las lecturas de absorbancia correspondientes a las muestras se realizaron a 760nm en condiciones de oscuridad.

### *Determinación de capacidad antioxidante.*

La actividad antioxidante es un parámetro que ha tomado mucha notoriedad en investigaciones sobre materiales vegetales. Esta actividad está relacionada a compuestos capaces de proteger a un sistema biológico contra el potencial daño de los procesos oxidantes. Debido a esto, los antioxidantes han recibido un aumento de atención por su potencial para proteger contra enfermedades degenerativas como cáncer y desórdenes cardiovasculares, además del envejecimiento (Urbani *et. al.*, 2008).

Existen diversos métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia. En este caso se determinó mediante el radical ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)), llevando a la muestra a una absorbancia = 0.7 ( $\pm$ .02) a 734nm con etanol, leyéndolas al minuto 0, 1, 7 y 14. El análisis se realizó bajo condiciones de obscuridad (Urbani *et. al.*, 2008).

#### *Análisis reológico y textural de masas y tortillas.*

Tanto las propiedades texturales como reológicas son fundamentales en la investigación y desarrollo de nuevos productos debido a estar intrínsecamente relacionadas con las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los constituyentes del sistema alimenticio, así como a las variables de operación que se aplican en las diferentes etapas del proceso (Rodríguez-Sandoval, 2005). Las pruebas realizadas a masas fueron: color, rendimiento de masas, índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad de agua (ISA), adhesión – cohesión, viscosidad y entalpía de gelatinización; mientras que a la tortilla fueron: color, esfuerzo de corte y tensión y rolabilidad.

#### *Color.*

Las mediciones de color se realizaron por colorimetría de reflectancia de triestímulos. Las condiciones del instrumento fueron una apertura de diámetro de 65 mm y un ángulo de observación de 10°, calibrado con una placa estándar marca Master Color Data Hunter. El color se midió según la técnica utilizada por Martínez *et. al.*, 2006. Para la determinación del color en la tortilla, esta se colocó dentro de una caja negra para evitar la entrada de luz y se determinaron los parámetros a\*, b\* y L\* por triplicado, tanto en harinas como en tortillas.

#### *Rendimiento de masas.*

La elaboración de las tortillas se realizó en una máquina tortilladora manual (Lenin, México), con la masa preparada anteriormente, a la cual se le determinó el rendimiento de masa y tortilla, capacidad de absorción de agua (CAA) y pérdidas de peso (Flores Farías, *et. al.*, 2002.).

$$\text{CAA} = \frac{\text{mL de agua}}{\text{g de muestra}}$$

$$\text{Rendimiento de masa} = \text{CAA} + 1$$

$$\% \text{ Pérdida} = \left[ \frac{\text{Wt cruda} - \text{Wt cocida}}{\text{Wt cruda}} \right] \times 100$$

$$\text{Rendimiento de tortilla} = (\text{Rendimiento de masa}) (\text{Wt cocida} / \text{Wt cruda})$$

*Dónde:*

CAA = capacidad de absorción de agua.

Wt = peso de tortilla

#### *Reología de masas y Textura de tortillas.*

Las determinaciones de adhesividad y cohesividad de la masa se realizaron mediante un análisis de perfil de textura (TPA) utilizando para ello un texturómetro TA. XT2 (Texture Analyzer plus, UK). Los gráficos obtenidos de la determinación se analizaron utilizando el software Microcal Origin 6.0. Las pruebas de adhesión y cohesión se llevaron a cabo a una velocidad de 2mm/s, longitud = 4mm con un conteo = 4. El esfuerzo de corte se realizó bajo condiciones de velocidad = 2mm/s, longitud = 6mm y con conteo = 6. La prueba de tensión se llevó a cabo con una velocidad = 2mm/s, longitud = 15mm y conteo = 1. La prueba de rolabilidad de las tortillas se realizó de manera subjetiva. Ésta se realizó utilizando la técnica descrita por Martínez *et. al.* (2001); las tortillas son enrolladas alrededor de un rodillo de vidrio de 4cm de diámetro y el grado de ruptura se evalúa mediante una escala subjetiva donde: 1, 2, 3, 4 y 5 rasgaduras corresponden a 0, 25, 50, 75 y 100% del área de la tortilla.

#### *Índice de absorción de agua e índice de solubilidad en agua.*

Consiste en calcular gravimétricamente la cantidad de material disuelto la proporción de agua absorbida después de la agitación de una suspensión a temperatura ambiente. Fueron determinados de acuerdo a la metodología descrita por Anderson *et. al.*, 1969. El índice de absorción de agua (IAA), se expresó como la relación entre el peso del residuo después de la centrifugación y el peso seco de la muestra, al cual se le restó el peso del residuo de la evaporación del sobrenadante. El índice de solubilidad en agua (ISA) se expresó como la

relación entre el residuo de la evaporación y el peso seco de la muestra. Se realizaron tres determinaciones por tratamiento y se calcularon de la siguiente forma:

$$IAA = \frac{\text{Peso del residuo de centrifugación}}{\text{Peso de la muestra} - \text{Peso del residuo de evaporación}}$$

$$ISA = \left( \frac{\text{Peso del residuo de evaporación}}{\text{Peso de la muestra}} \right) \times 100$$

#### *Viscosidad.*

Se realizaron viscoamilogramas mediante un Rapid visco analyzer (RVA) Super 4. Newport Scientific, analizando los datos a través del programa TCW 3. Se prepararon soluciones con agua destilada al 10% (p/p); las cuáles se calentaron periódicamente hasta llegar a 90°C, durante 24 minutos (Rodríguez Sandoval, *et. al.*, 2006).

#### *Entalpía de gelatinización.*

La determinación de temperaturas y entalpías de gelatinización se hicieron utilizando una técnica termogravimétrica, específicamente, calorimetría diferencial de barrido (DSC) (Arámbula, *et. al.*, 2006). Se utilizó un DSC 288e Mettler - Toledo. El programa consistió en un barrido de temperatura de 30 – 100 °C utilizando una rampa de temperatura de 5 °C/min y una charola vacía como referencia. Las charolas empleadas fueron charolas Tzero herméticas de aluminio de 40 µL. Los termogramas obtenidos se analizaron por medio del software Universal Analysis.

#### *Análisis sensorial.*

A los diferentes tratamientos se les realizaron análisis sensoriales con el objetivo de evaluar su aceptación por parte del consumidor y observar su similitud con la tortilla de maíz nixtamalizado comercial. Se realizaron pruebas hedónicas para determinar lo anteriormente

mencionado. Las pruebas constaron de una escala hedónica de 9 puntos para determinar la formulación de mayor aceptación sensorial y su nivel de agrado (Pedrero y Pangborn, 1997). Estas pruebas fueron evaluadas por un panel no entrenado de 40 personas de la población estudiantil y trabajadora de la institución, las cuales evaluaron los diferentes atributos de las tortillas formuladas (Scazzina *et. al.*, 2008).

#### *Vida de anaquel.*

Las muestras fueron envasadas en bolsas de polipropileno transparente y se almacenaron durante 7 días a 25°C, protegidas de la luz. Cada día se les realizaron las siguientes determinaciones analíticas: humedad por el método de la A.O.A.C (1990), (Martínez-Flores *et. al.*, 2004) y rolabilidad, por el método antes descrito.

#### *Bioensayos.*

Se realizaron 2 grupos de bioensayos diferentes a) bioensayo de dos generaciones para evaluar el efecto de la fortificación con fuentes proteínicas sobre el crecimiento y b) bioensayo para evaluar un posible efecto hipoglucemiante de las tortillas fortificadas con fibra.

En ambos bioensayos se utilizaron ratas Wistar, variando la edad y el tiempo de estudio, siendo en a) ratas recién destetadas de alrededor de 1 mes de edad, con duración de 10 días, a las cuales se les reprodujo para obtener una segunda generación. Las madres, durante la gestación y lactación, fueron alimentadas con la misma dieta, al igual que sus crías, hasta tener 1 mes de edad y en b) ratas entre 2 – 3 meses de edad con duración de 21 días. En ambos bioensayos, cada rata fue albergada en jaulas individuales bajo condiciones estándar (12:12h de luz/oscuridad, 50% de humedad relativa y 21°C ± 2) dónde tendrán alimento y agua *ad libitum*. Las dietas suministradas se detallan en la Tabla 9 (Amaya-Guerra *et. al.*, 2006).

Se realizó una caracterización química de cada una de los tratamientos mediante un análisis bromatológico mediante las metodologías oficiales de la A.O.A.C (1990, 1997) mencionadas con anterioridad.

**Tabla 8. Tratamientos que se utilizarán en los ensayos biológicos para ratas de laboratorio.**

<b>Dieta</b>	<b>Clave</b>	<b>Variación.</b>
Control	<b>CAS</b>	Control positivo: caseína.
Tortilla fortificada con 3% de frijol y 7% amaranto.	<b>3F7A</b>	90% maíz, 3% frijol, 7% amaranto
Tortilla fortificada con 5% de frijol y 5% amaranto.	<b>5F5F</b>	90% maíz, 5% frijol, 5% amaranto
Tortilla fortificada con 7% de frijol y 3% amaranto.	<b>7F3A</b>	90% maíz, 7% frijol, 3% amaranto
Tortilla fortificada con 3% de nopal y 7% alga.	<b>3N7AL</b>	90% maíz, 3% nopal, 7% alga
Tortilla fortificada con 5% de nopal y 5% alga.	<b>5N5AL</b>	90% maíz, 5% nopal, 5% alga
Tortilla fortificada con 7% de nopal y 3% alga.	<b>7N3AL</b>	90% maíz, 7% nopal, 3% alga
Tortilla de masa regular enriquecida *	<b>TR</b>	Control negativo.

\*En todos los tratamientos de tortilla, se utilizó harina de maíz blanco nixtamalizado de una marca comercial.

**Tabla 9. Ingredientes a utilizar para la elaboración de dieta control basada en caseína (Bieri, 1980).**

<b>Ingrediente</b>	<b>Dieta control (%)</b>
<b>Caseína</b>	20.0
<b>Almidón de maíz</b>	50.0
<b>Sacarosa</b>	15.2
<b>Aceite de algodón</b>	5.0
<b>Celulosa</b>	5.0
<b>Minerales AIN</b>	3.5
<b>Vitaminas AIN</b>	1.0
<b>DL-metionina</b>	0.3

Cada dieta fue pesada y molida hasta obtener un polvo, el cual fue suministrado a las ratas que se utilizaron en el estudio a), correspondiente a las dietas con frijol y amaranto. Para las ratas madres en gestación y lactancia, los tratamientos fueron suministrados en forma de tortilla trozada (Amaya-Guerra, 2003). De igual manera, en el estudio b), las dietas fueron suministradas en forma de tortilla trozada.

#### *Determinación de energía metabolizable.*

Se calculó la energía metabolizable de cada una de las dietas en base al contenido de carbohidratos solubles (ELN), proteína y grasa (extracto etéreo) mediante la siguiente fórmula (USDA, 1982):

$$\text{EM} = (\% \text{ ELN} * 4\text{Kcal/g}) + (\% \text{ proteína} * 4\text{Kcal/g}) + (\% \text{ extracto etéreo} * 9\text{Kcal/g})$$

#### *Determinación de aminoácidos.*

Se determinó el perfil de aminoácidos de cada tratamiento mediante el empleo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), en donde se derivatizaron los aminoácidos presentes en las muestras con carbamato de 6-aminoquinolil-n-hidroxisuccinimidila (Kamp, 1991). El triptófano se cuantificó mediante el método colorimétrico con dimetil-amino benzaldehído.

#### *Estudio metabólico.*

Se determinó nitrógeno de la orina y heces recolectadas de las ratas Wistar del bioensayo a), durante un período de 10 días (Amaya-Guerra, 2003). La digestibilidad y el valor de retención de nitrógeno fueron calculados mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Digestibilidad aparente de proteína} = \frac{(\text{consumo de alimento } (\%N) - \text{heces } (\%N))}{\text{Consumo de alimento } (\%N)} \times 100$$

$$\text{Valor biológico (VB)} = \frac{(\text{Consumo de alimento } (\%N) - \text{heces } (\%N) - \text{orina } (\%N))}{\text{Consumo de alimentos } (\%N) - \text{heces } (\%N)} \times 100$$

$$\text{Utilización neta de proteína} = (\% \text{ de digestibilidad de proteína}) (\% \text{ VB}) / 100$$

$$\text{Valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína (PDCEAAS)} = (\text{Valor de aminoácidos esenciales } (\%)) (\text{Digestibilidad aparente de proteína } (\%)) / 100$$

### *Glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre.*

Se midió la cantidad de glucosa libre, triglicéridos y colesterol en sangre en las ratas Wistar del bioensayo b). Se muestreó cada semana muestras de sangre por la vena de la cola y se recolectó en un vial de 0.5mL para su centrifugación y análisis de suero sanguíneo, mediante un kit enzimático comercial (Bang *et. al.*, 2009).

### *Análisis estadístico.*

Todos los datos serán analizados usando un diseño experimental de bloques al azar. Se calculará el valor de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) para detectar diferencias entre los tratamientos. Para los análisis de correlación se utilizará el coeficiente de correlación de Pearson con dos colas, con nivel de significancia de  $P < 0.05$  y  $P < 0.01$ . Todos los datos serán analizados utilizando el paquete computacional MiniTab versión 14 (2005).

**CAPÍTULO 1**

**FORMULACIÓN Y DESARROLLO DE TORTILLAS  
FORTIFICADAS**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se explicó en el apartado de objetivos, parte de éstos fue el desarrollar 2 grupos de formulaciones fortificadas: a) fortificación con fuentes de proteína, para la cual se utilizó harina de frijol y harina de amaranto y b) fortificación con fuentes de fibra dietética, donde se usó harina de nopal y harina de alga. Esto con el fin de observar el efecto de cada fortificación sobre la tortilla y su comportamiento fisicoquímico y biológico. Por lo tanto, la secuencia a seguir en el trabajo será el mencionar primero el grupo a) y posteriormente b).

### Análisis de materias primas

Las materias primas (harina comercial de maíz nixmatalizado, harina de palomita de amaranto integral y harina de frijol cocido) se les realizó un estudio bromatológico, comprendiendo humedad, cenizas totales, proteína (método micro Kjeldhal), extracto etéreo, fibra dietética y extracto libre de nitrógeno ELN (determinado por diferencia). Los resultados en base seca se presentan en la Tabla 10.

**Tabla 10. Análisis bromatológico (base seca) de las harinas de amaranto, frijol y harina comercial de maíz nixtamalizado utilizadas en la investigación<sup>1</sup>.**

Componente/Muestra	Harina de amaranto	Harina de frijol	Harina de Maíz
Proteína (%)	14.65	25.47	8.70
Extracto etéreo (%)	9.07	2.61	1.10
Fibra dietética (%)	13.98	14.54	10.95
Cenizas (%)	3.54	2.91	0.92
ELN (%)	58.76	54.47	78.33

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

Se observaron diferencias importantes entre las 3 harinas usadas, obteniendo valores dentro de los reportados en literatura para amaranto y frijol (Guzmán Maldonado y Paredes López, 1998). Entre las diferencias presentes entre las 3 harinas, se observó que tanto la harina de amaranto como la de frijol presentan valores superiores de proteína (14.65% y 25.47%), extracto etéreo (9.07% y 2.61%), así como de fibra dietética (13.98% y 14.54%), respecto a la harina comercial de maíz nixtamalizado. A la par, presentaron valores inferiores de ELN, debido a la diferencia de porcentajes de los demás nutrientes.

Estos datos son de suma importancia, principalmente el porcentaje de proteína, debido al objetivo de este grupo; evaluar el efecto de la fortificación proteica sobre ratas Wistar en

desarrollo. La inclusión de ambas harinas como fuente de proteína proporcionaría un efecto positivo en el aporte cuantitativo de estas biomoléculas, solo suponiendo su aporte cualitativo.

Debido a estos datos, se prosiguió con un aminograma para comprobar dicha información. El aminograma alcanza la identificación y cuantificación de cada uno de los aminoácidos constituyentes de las proteínas. Éste comprende una cromatografía de intercambio iónico tras una hidrólisis ácida previa, excepto triptófano (hidrólisis básica) y metionina y cisteína, aminoácidos azufrados que sufren una oxidación total previa. La información arrojada por el aminograma comprende tanto datos cualitativos como cuantitativos, ya que nos proporciona la cantidad de cada aminoácido presente en las proteínas, además de servir como un paso previo y obligatorio para el cómputo químico de la calidad nutritiva de la proteína, dando un aproximado de los resultados obtenidos por los métodos biológicos.

**Tabla 11. Aminograma de las harinas de amaranto, frijol y harina comercial de maíz nixtamalizado utilizadas en la investigación.**

<b>Aminoácido/Muestra</b>	<b>Harina de amaranto</b>	<b>Harina de frijol</b>	<b>Harina de Maíz</b>
<b>Taurina</b>	0.00	0.01	0.01
<b>Hidroxiprolina</b>	0.00	0.00	0.00
<b>Ácido aspártico</b>	1.29	3.26	0.58
<b>Treonina</b>	0.55	1.12	0.30
<b>Serina</b>	0.82	1.38	0.35
<b>Ácido glutámico</b>	2.57	3.96	1.65
<b>Prolina</b>	0.63	1.11	0.78
<b>Lantionina</b>	0.00	0.01	0.00
<b>Glicina</b>	1.19	1.02	0.34
<b>Alanina</b>	0.58	1.08	0.67
<b>Cisteína</b>	0.33	0.23	0.19
<b>Valina</b>	0.65	1.51	0.45
<b>Metionina</b>	0.34	0.26	0.18
<b>Isoleucina</b>	0.59	1.30	0.33
<b>Leucina</b>	0.90	2.23	1.12
<b>Tirosina</b>	0.52	0.90	0.29
<b>Fenilalanina</b>	0.65	1.60	0.43
<b>Hidroxilisina</b>	0.01	0.02	0.01
<b>Ornitina</b>	0.01	0.01	0.00
<b>Lisina</b>	0.87	1.83	0.26
<b>Histidina</b>	0.42	0.75	0.27
<b>Arginina</b>	1.47	1.55	0.42
<b>Triptofano</b>	0.26	0.33	0.07
<b>Total</b>	14.65	25.47	8.70
<b>Proteína cruda*</b>	17.32	25.99	9.38

\* Porcentaje: N X 6.25.

Gramos por 100 gramos de muestra.

En la Tabla 11 se muestran los resultados del aminograma a las 3 materias primas para la fortificación con proteína. En el caso de la harina de maíz, se presentaron valores importantes de ácido glutámico y leucina, caso contrario para lisina y triptófano, presentando 0.26 y 0.07g / 100g de harina, respectivamente. Ambos son los aminoácidos limitantes del maíz y de todos los cereales (Serna Saldivar, 1998).

Sobre el amaranto, se observa una cantidad importante de ácido aspártico, ácido glutámico, glicina y arginina. Para frijol, encontramos un aporte alto de ácido glutámico y aspártico, leucina, serina, prolina, valina y lisina. En ambos casos, tanto el amaranto como el frijol, presentan cantidades importantes de los aminoácidos limitantes del maíz, 0.87g de lisina y 0.26g de triptófano / 100g de harina de amaranto (3.5 veces más, para ambos aminoácidos) y 1.83 y 0.33g / 100g de harina de frijol para dichos aminoácidos (7 veces más para lisina y 4.7 veces para triptófano).

Estos datos llevaron a la realización de un cómputo químico de aminoácidos, basándose en que la inclusión de ambas harinas no excediera el 10% en todas las formulaciones experimentales. Esta decisión fue tomada porque en diversas investigaciones, se ha reportado que aunque una fortificación superior al 10% con harina de amaranto o frijol aporta cantidades importantes de proteína de adecuado valor biológico, esta puede incrementar de manera importante el costo del producto, así como afectar las propiedades texturales y sensoriales de la tortilla resultante (Navarrete y Bressani, 1981; Morales *et. al.*, 1988; Aguirre Flores, 1996; Bressani, 2010). El análisis de datos nos arrojó 3 formulaciones experimentales : 7% frijol con 3% amaranto (7F3A), 5% frijol y 5% amaranto (5F5A) y 3% frijol y 7% amaranto (3F7A) (Tabla 12), las cuales se compararon con un control de harina comercial de maíz nixtamalizado, llamada desde este punto TR.

**Tabla 12. Análisis bromatológico (base seca) y cuantificación de lisina, triptófano, fibra insoluble y soluble de formulaciones de tortilla fortificada con harinas de frijol y amaranto.**

	<b>7F3A</b>	<b>5F5A</b>	<b>3F7A</b>	<b>TR</b>
<b>Proteína (%)</b>	10.02 <sup>c</sup>	10.59 <sup>c</sup>	9.166 <sup>b</sup>	8.59 <sup>a</sup>
<b>Lisina (Lys)*</b>	3.89 <sup>b</sup>	3.49 <sup>b</sup>	3.85 <sup>b</sup>	2.99 <sup>a</sup>
<b>Triptófano (Trp)*</b>	0.90 <sup>b</sup>	0.85 <sup>b</sup>	0.98 <sup>b</sup>	0.80 <sup>a</sup>
<b>Extracto etéreo</b>	1.45 <sup>b</sup>	1.57 <sup>b</sup>	1.70 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>
<b>FD total (%)</b>	11.30 <sup>b</sup>	11.29 <sup>b</sup>	11.28 <sup>b</sup>	10.96 <sup>a</sup>
<b>FI (%)</b>	10.86	10.89	10.92	10.75
<b>FS (%)</b>	0.44 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.36 <sup>b</sup>	0.20 <sup>a</sup>
<b>Cenizas (%)</b>	1.14 <sup>b</sup>	1.15 <sup>b</sup>	1.16 <sup>b</sup>	0.92 <sup>a</sup>
<b>ELN (%)</b>	74.81 <sup>a</sup>	74.69 <sup>a</sup>	74.58 <sup>a</sup>	78.33 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma línea son significativamente diferentes (p<0.05).

\*Valores por mg/kg de proteína.

Se puede observar que el impacto de la fortificación de TR con los 3 diferentes porcentajes de harina de amaranto y frijol es significativo ( $p < 0.05$ ), principalmente en el aporte de proteína total y en el porcentaje de lisina y triptófano, principalmente la formulación con 5% de frijol / 5% de amaranto (5F5A), incrementando hasta en un 2% la proteína total. Resultados similares fueron obtenidos en un proceso de nixtamalización de maíz y frijol para la producción de tortillas. En dicha investigación se obtuvieron 9.71% proteína, 30g de lisina/kg de proteína y 4.26g de triptófano/kg de proteína, en una mezcla de 95:5 maíz:frijol (Cuevas-Martínez *et. al.*, 2010). El incremento de extracto etéreo, fibra dietética total, cenizas, así como el decremento de ELN son significativos, lo que puede aportar un efecto positivo en la dieta, además de afectar el comportamiento de las masas y tortillas resultantes.

Referente a las formulaciones fortificadas con harina de nopal y harina de alga, antes de su elaboración, se realizaron los mismos análisis que a las fórmulas con frijol y amaranto. A través del escrito, se seguirá esta secuencia. En la Tabla 13 se observan los valores obtenidos para la harina de alga y nopal. La primera mostró una cantidad importante de proteína cruda (13.13%), así como un valor alto de cenizas (18.36%) y fibra dietética total (44.44%). En el caso de la harina de nopal, estos últimos valores también se muestran altos, con valores de 14.22% y 43.76%, respectivamente. Es importante recalcar que en ambas, el ELN muestra valores bajos, 21.15% para alga y 37.74% para nopal, lo que representa una disminución del 66% y 50% en ELN respecto a harina de maíz nixtamalizado.

**Tabla 13. Análisis bromatológico (base seca) harinas de alga y nopal y de harina comercial de maíz nixtamalizado utilizados en la investigación.**

Componente/Muestra	Harina de alga	Harina de nopal	Harina de Maíz
<b>Proteína (%)</b>	13.13	3.21	8.70
<b>Extracto etéreo (%)</b>	2.92	1.07	1.10
<b>Fibra dietética (%)</b>	44.44	43.76	10.95
<b>Cenizas (%)</b>	18.36	14.22	0.92
<b>ELN (%)</b>	21.15	37.74	78.33

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

El alga utilizada en este estudio, *Ulva clathrata*, así como de otros géneros, se conoce bien su riqueza en polisacáridos complejos, vitaminas y minerales, bajas en contenido de grasa y aportan un contenido medio o alto de proteína. Sin embargo, los datos de su biodisponibilidad son limitados. (Bocanegra *et. al.*, 2003). También, es por demás conocido

que las algas contienen numerosos compuestos bioactivos que promueven un buen estado de salud (Bocanegra *et. al.*, 2009). Por estos conceptos, las algas, principalmente del género *Ulva* (o *Enteromorpha*), representan una fuente natural con potencial económico para la nutrición humana y animal (Ortiz *et. al.*, 2006).

Tanto *Ulva clathrata* como las demás especies del género presentan una cantidad importante de compuestos nutricionales, variando entre 15 – 20g/kg de proteína, alrededor de 9g/kg de extracto etéreo, de la cual, aproximadamente el 60% son grasas insaturadas (22.6% monoinsaturado y 35.3% de poliinsaturados), 11.9% de fibra cruda, 16g/kg de cenizas y 42.6% de carbohidratos solubles (Taboada *et. al.*, 2009; Wong y Cheung, 2000).

En el caso del nopal, *Opuntia ficus-indica*, la composición nutricional varía debido a la naturaleza propia del cultivo y la salinidad del terreno. Para la producción de harina de nopal suele utilizarse el cladodio lignificado (2 – 3 años de edad), con valores alrededor de 3.7% de proteína, 1.33% de grasa, 14.2% de cenizas (López *et. al.*, 1977; Pimienta, 1990), además de hasta 55.05% de fibra dietética total, con 14% de fibra soluble y 40% de fibra insoluble (Cornejo Villegas *et. al.*, 2010). Ambas harinas concuerdan con los reportes citados.

En los aminogramas realizados a ambas harinas (Tabla 14), no se observaron cantidades importantes de los aminoácidos limitantes de la harina de maíz, lisina y triptófano. En la harina de alga se presentaron 0.48g de lisina / 100g de muestra y 0.10g de triptófano / 100g de muestra. Para la harina de nopal, los valores fueron aún menores que la harina de maíz. Debido a este hecho y obtener porcentajes superiores a 40% de fibra dietética para ambas harinas (Tabla 13), se ideó que dichas harinas pueden ser materias primas adecuadas para la realización de formulaciones de harina y tortilla fortificada con fibra dietética.

Al realizar las formulaciones en los mismos porcentajes usados para las formulaciones con frijol y amaranto (Tabla 15), se obtuvieron 3 tratamientos experimentales: 7% nopal y 3% alga (7N3AL), 5% nopal y 5% alga (5N5AL), y 3% nopal y 7% alga (3N7AL). En éstas se observan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los valores de proteína, fibra dietética (FD) total, cenizas y ELN. En el caso proteína, FD total y cenizas, se observó un aumento significativo respecto a la harina de maíz nixtamalizado (TR), reportando valores superiores hasta un 36%, 30%, 176%, respectivamente.

**Tabla 14. Aminogramas de harinas de alga y nopal y de harina comercial de maíz nixtamalizado utilizados en la investigación.**

Aminoácido/Muestra	Harina de alga	Harina de nopal	Harina de Maíz
Taurina	0.09	0.02	0.01
Hidroxiprolina	0.34	0.00	0.00
Ácido aspártico	1.70	0.34	0.58
Treonina	0.71	0.16	0.30
Serina	0.69	0.13	0.35
Ácido glutámico	1.73	0.46	1.65
Prolina	0.50	0.19	0.78
Lantionina	0.02	0.00	0.00
Glicina	0.85	0.18	0.34
Alanina	1.28	0.22	0.67
Cisteína	0.30	0.04	0.19
Valina	0.80	0.21	0.45
Metionina	0.26	0.05	0.18
Isoleucina	0.48	0.17	0.33
Leucina	0.75	0.29	1.12
Tirosina	0.31	0.10	0.29
Fenilalanina	0.64	0.17	0.43
Hidroxilisina	0.18	0.06	0.01
Ornitina	0.12	0.00	0.00
Lisina	0.48	0.20	0.26
Histidina	0.12	0.06	0.27
Arginina	0.68	0.16	0.42
Triptófano	0.10	< 0.04	0.07
Total	13.13	3.21	8.70
Proteína cruda*	14.99	4.45	9.38

\* Porcentaje: N X 6.25.

Gramos por 100 gramos de muestra.

**Tabla 15. Análisis bromatológico (base seca) y cuantificación de lisina, triptófano, fibra insoluble y soluble de formulaciones de tortilla fortificada con harinas de nopal y alga.**

	7N3AL	5N5AL	3N7AL	TR
Proteína (%)	9.45 <sup>b</sup>	10.59 <sup>c</sup>	11.74 <sup>d</sup>	8.59 <sup>a</sup>
Lisina (Lys)*	2.86 <sup>a</sup>	2.55 <sup>a</sup>	2.22 <sup>a</sup>	2.99 <sup>a</sup>
Triptófano (Trp)*	0.74 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>	0.80 <sup>a</sup>
Extracto etéreo (%)	1.15	1.18	1.22	1.10
FD total (%)	14.26 <sup>b</sup>	14.27 <sup>b</sup>	14.29 <sup>b</sup>	10.96 <sup>a</sup>
FI (%)	12.75 <sup>b</sup>	12.49 <sup>b</sup>	12.23 <sup>b</sup>	10.75 <sup>a</sup>
FS (%)	1.51 <sup>b</sup>	1.78 <sup>b</sup>	2.06 <sup>c</sup>	0.20 <sup>a</sup>
Cenizas (%)	2.37 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	2.54 <sup>b</sup>	0.92 <sup>a</sup>
ELN (%)	67.96 <sup>a</sup>	67.81 <sup>a</sup>	67.66 <sup>a</sup>	78.33 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma línea son significativamente diferentes (p<0.05).

\*Valores por mg/kg de proteína.

El aumento de proteína presente en las formulaciones de fibra, principalmente en 3N7AL representa un aporte cuantitativo significativo más no cualitativo, debido a la falta de suplementación con lisina y triptófano, caso contrario a lo visto en las fortificaciones con frijol y amaranto. Sin embargo, el aumento de fibra dietética significa un aporte importante, tanto en cantidad bruta (FD) como en fibra insoluble (FI) y fibra soluble (FS), aportando hasta un 18% de FI e incrementando hasta 10 veces más los valores de FS, respecto a TR. En el caso de cenizas, es del conocimiento que ambas fuentes vegetales son ricas en minerales, principalmente calcio, fósforo, potasio y en el caso del alga, yodo y magnesio (Taboada *et. al.*, 2009; Wong y Cheung, 2000). Para el ELN, los valores disminuyeron en un 13.6%, promedio. Estos cambios, además de aportar un efecto positivo en la dieta, podrían modificar el comportamiento reológico y textural de los productos resultantes.

## **Análisis de harinas y masas**

### **Propiedades de color en harinas y tortillas**

El color es el primer estímulo sensorial recibido por el consumidor, por lo que se considera una característica de suma importancia en cualquier producto. Esta característica fue medida en el espacio de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ; donde  $L^*$  es referente a la luminosidad (0 = negro y 100 = blanco),  $a^*$  va de verde a rojo (de  $-$  a  $+$ ) y  $b^*$  va de azul a amarillo (de  $-$  a  $+$ ).

Tanto en harina como en tortilla, se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos experimentales y la harina comercial (TR). En harina, TR fue más luminosa y menos amarilla que éstos. Después de un cocimiento, TR presentó diferencias importantes en la luminosidad, además de ser menos rojas (Tabla 16 y 17). Este hecho puede explicarse, en parte, a la industrialización de la harina de maíz nixtamalizado, materia prima principal en todas las formulaciones. En este proceso, hay tiempos cortos de reposo (alrededor de 1h), evitando el oscurecimiento del nixtamal y la aparición del color amarillo en el grano del maíz. A su vez, el uso de blanqueadores en las harinas comerciales para tener harinas menos amarillas, que son de mayor aceptación en el consumidor, pudo ser otro factor importante en los valores obtenidos.

En el caso de las formulaciones proteicas (Tabla 16), presentan menor luminosidad, un aumento en los tonos rojos y amarillos (valores positivos de  $a^*$  y  $b^*$ , respectivamente), tanto en harina como en tortillas, acentuándose en estas últimas. En el caso de las formulaciones con fibra dietética (Tabla 17), siguen el mismo comportamiento; siendo poco luminosas, y variando los tonos  $a^*$  y  $b^*$ , con un aumento en el tono verde (valores negativos de  $a^*$ ) y menos amarillas que TR (valores menores de  $b^*$ ), valores reportados con anterioridad (Guevara Arauza *et. al.*, 2011).

Estos datos nos indican que, aún con la presencia de blanqueadores de harina, las reacciones de caramelización y de Maillard al momento de cocer la oblea de masa, aumenta el tono amarillo de la tortilla resultante (Martínez *et. al.*, 2001), en menor o mayor medida; además de la presencia de pigmentos naturales, como polifenoles, clorofilas, antocianinas, entre otros, presentes en las harinas que ejercen la fortificación proteica y de fibra, que ejercen un cambio en el color del producto.

**Tabla 16. Análisis de color a formulaciones de harina y tortilla de tortilla fortificada con frijol y amaranto.**

<b>HARINAS</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>L</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>TR</b>	92.24 <sup>a</sup>	-0.81 <sup>a</sup>	0.62 <sup>a</sup>
<b>7F3A</b>	82.49 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	12.83 <sup>b</sup>
<b>5F5A</b>	82.95 <sup>b</sup>	0.77 <sup>b</sup>	12.62 <sup>b</sup>
<b>3F7A</b>	83.08 <sup>b</sup>	0.73 <sup>b</sup>	12.69 <sup>b</sup>
<b>TORTILLAS</b>			
<b>TR</b>	74.12 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>	19.46 <sup>a</sup>
<b>5F5A</b>	68.12 <sup>b</sup>	3.49 <sup>b</sup>	19.33 <sup>a</sup>
<b>7F3A</b>	69.20 <sup>b</sup>	3.34 <sup>b</sup>	18.80 <sup>a</sup>
<b>3F7A</b>	68.29 <sup>b</sup>	3.58 <sup>b</sup>	18.96 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

L\* = 0 produce negro, L\* = 100 indica un blanco difuso.

a\*, valores negativos indican verde mientras valores positivos indican magenta.

b\*, valores negativos indican azul mientras valores positivos indican amarillo.

**Tabla 17. Análisis de color a formulaciones de harina y tortilla fortificada con nopal y alga.**

<b>HARINAS</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>L</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>TR</b>	92.24 <sup>a</sup>	-0.81 <sup>a</sup>	0.62 <sup>a</sup>
<b>3N7AL</b>	72.38 <sup>b</sup>	-1.97 <sup>b</sup>	11.32 <sup>b</sup>
<b>5N5AL</b>	74.30 <sup>b</sup>	-1.65 <sup>b</sup>	12.24 <sup>b</sup>
<b>7N3AL</b>	76.17 <sup>b</sup>	-1.26 <sup>b</sup>	12.95 <sup>b</sup>
<b>TORTILLAS</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>L</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>
<b>TR</b>	74.12 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>	19.46 <sup>a</sup>
<b>3N7AL</b>	44.08 <sup>b</sup>	-4.02 <sup>b</sup>	13.93 <sup>b</sup>
<b>5N5AL</b>	48.18 <sup>b</sup>	-2.98 <sup>b</sup>	14.91 <sup>b</sup>
<b>7N3AL</b>	49.79 <sup>b</sup>	-1.99 <sup>b</sup>	14.92 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

L\* = 0 produce negro, L\* = 100 indica un blanco difuso.

a\*, valores negativos indican verde mientras valores positivos indican magenta.

b\*, valores negativos indican azul mientras valores positivos indican amarillo.

## Rendimiento y reología de masas

Dentro de los análisis de rendimiento de masas realizados, comprendidos por la capacidad de absorción de agua (CAA), pérdida de peso y rendimiento de masa y tortilla (Tabla 18 y 19), no se encontraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre los diferentes tratamientos. El no presentar cambio aparente dentro de este rubro nos indica un adecuado desarrollo de la masa, siendo similar a la masa de tortilla comercial, hecho que se explica con los valores de CAA y el rendimiento de masa, ya que juntos indican el desarrollo de masa y su adecuado tratamiento térmico posterior, además de indicar que el tamaño de partícula está uniforme (Pérez Herrera *et. al.*, 2002; Fernández Muñoz *et. al.*, 2008).

**Tabla 18. Análisis de rendimiento de masas de formulaciones de harina de tortilla fortificada con frijol y amaranto, respecto a masa de maíz nixtamalizado (TR).<sup>1,2</sup>**

Tratamiento	CAA(%)	Rendimiento Masa (%)	Perdida Peso (%)	Rendimiento Tortilla (%)
TR	1.32 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>	26.10 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
7F3A	1.21 <sup>a</sup>	2.21 <sup>a</sup>	26.67 <sup>a</sup>	1.62 <sup>a</sup>
5F5A	1.28 <sup>a</sup>	2.28 <sup>a</sup>	27.58 <sup>a</sup>	1.65 <sup>a</sup>
3F7A	1.19 <sup>a</sup>	2.19 <sup>a</sup>	24.17 <sup>a</sup>	1.66 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de diez repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p<0.05$ ).

**Tabla No. 19. Análisis de rendimiento de masas de formulaciones de harina de tortilla fortificada con nopal y alga, respecto a masa de maíz nixtamalizado (TR).<sup>1,2</sup>**

Tratamiento	CAA (%)	Rendimiento Masa (%)	Perdida peso (%)	Rendimiento Tortilla (%)
TR	1.32 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>	26.10 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>
3N7AL	1.38 <sup>a</sup>	2.38 <sup>a</sup>	25.46 <sup>a</sup>	1.78 <sup>a</sup>
5N5AL	1.28 <sup>a</sup>	2.28 <sup>a</sup>	26.44 <sup>a</sup>	1.68 <sup>a</sup>
7N3AL	1.31 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>	25.18 <sup>a</sup>	1.73 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de diez repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p<0.05$ ).

Referente a los índices de absorción (IAA) y solubilidad en agua (ISA), las propiedades de adhesión y cohesión; para las formulaciones proteicas se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en IAA y cohesión (Tabla 20). Con respecto a las fórmulas con fibra dietética (Tabla 21), se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el IAA. Ambos valores significan una mayor absorción de agua de la masa, además de mostrar un incremento de la aglomeración de las partículas en la misma, sin aumentar su pegajosidad. Los valores arrojados para IAA e ISA en todas los tratamientos fueron similares a los reportados para harina comercial de maíz nixtamalizado (Flores Farías *et. al.*, 2002).

**Tabla No. 20. Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad de agua (ISA) y adhesión - cohesión para harinas de maíz fortificado con harinas de frijol y amaranto respecto a un control de maíz nixtamalizado (TR)<sup>3</sup>.**

Tratamiento	IAA <sup>1</sup> (g de agua/g de harina)	ISA <sup>1</sup> (%)	Fuerza de cohesión <sup>2</sup> (N)	Fuerza de adhesión <sup>2</sup> (N)
TR	5.45 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	1.93 <sup>b</sup>	-0.35 <sup>a</sup>
7F3A	6.99 <sup>b</sup>	5.10 <sup>a</sup>	2.14 <sup>c</sup>	-0.25 <sup>a</sup>
5F5A	7.01 <sup>b</sup>	5.42 <sup>a</sup>	1.50 <sup>a</sup>	-0.36 <sup>a</sup>
3F7A	6.96 <sup>b</sup>	4.85 <sup>a</sup>	1.70 <sup>ab</sup>	-0.41 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Promedio de cuatro repeticiones.

<sup>3</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Tabla No. 21. Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad de agua (ISA) y adhesión - cohesión para harinas de maíz fortificado con harinas nopal y alga respecto a un control de maíz nixtamalizado (TR)<sup>3</sup>.**

Tratamiento	IAA <sup>1</sup> (g de agua/g de harina)	ISA <sup>1</sup> (%)	Fuerza de cohesión <sup>2</sup> (N)	Fuerza de adhesión <sup>2</sup> (N)
TR	5.45 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	1.93 <sup>a</sup>	-0.35 <sup>a</sup>
3N7AL	7.44 <sup>b</sup>	5.33 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>	-0.32 <sup>a</sup>
5N5AL	7.19 <sup>b</sup>	4.87 <sup>a</sup>	2.32 <sup>b</sup>	-0.32 <sup>a</sup>
7N3AL	7.36 <sup>b</sup>	4.38 <sup>a</sup>	1.75 <sup>a</sup>	-0.28 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Promedio de cuatro repeticiones.

<sup>3</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Cabe hacer notar que los valores de cohesión son menores a los reportados para masas de harina comercial de maíz (2.57N), así como para fórmulas fortificadas con soya al 4% (2.88N) y 6% (2.89N) (Figueroa Cárdenas *et. al.*, 2001). Esta diferencia puede deberse a varias razones. Una de ellas es justo el uso de harina de maíz comercial para los experimentos. El usarla podría hacer suponer que se presentaría menor variabilidad pero en numerosas investigaciones han mostrado una inconsistencia en la calidad en éstas debido al tipo de grano utilizado, las condiciones de procesado y almacenamiento de la materia prima y producto terminado, principalmente (Bedolla y Rooney, 1984; Flores-Farías *et. al.*, 2002). Además, este tipo de harina de maíz tiene diversos aditivos para aumentar el rendimiento de la masa para la realización de tortillas. Uno de estos ingredientes, la goma guar, puede afectar el comportamiento de absorción de agua del almidón, durante el mezclado como en el proceso térmico (Nagano *et. al.*, 2008).

Otro factor a considerar es la presencia de tipos de almidones diferentes al maíz. En el primer caso, están frijol y amaranto, los cuales proporcionan heterogeneidad en el tamaño y forma de dicha macromolécula; cambiando los porcentajes de amilosa y amilopectina, afectando la retrogradación y viscosidad (Paredes-López *et. al.*, 1988, 1989), así como la cohesividad y adhesividad de las masas (Serna-Saldivar, 2008). Este último dato es importante hacer hincapié, ya que debido a las concentraciones de amilosa en el amaranto (4.7 – 12.5%) (Kong, 2009) y principalmente de frijol (34 – 39%) (Ovando-Martínez *et. al.*, 2011), se pudo afectar la adhesividad si las formulaciones experimentales tuvieran mayor porcentaje de frijol, debido a que la adhesión está correlacionada negativamente a la concentración de amilosa (Sahai *et. al.*, 2001).

En el caso de las fórmulas con nopal y alga, se observó un incremento de alrededor del 33% en el IAA para las 3 formulaciones experimentales. Dicho dato es por la inclusión de las fibras y el tipo de éstas presentes en las harinas de nopal y alga. Se ha encontrado que el aumento significativo en la presencia de fibras, tanto solubles e insolubles, afectan de manera importante el comportamiento tecnológico de las harinas y masas resultantes.

La adición de harina de nopal, especialmente cuando ha pasado por tratamiento térmico en corto tiempo, como en el caso de la cocción de la tortilla, afecta la absorción de agua debido a la presencia de gomas, mucílagos y pectinas (Cornejo Villegas *et. al.*, 2010). Se han estudiado las propiedades reológicas del mucílago del nopal, tanto crudo (Medina Torres *et. al.*, 2010) como cocido (Ramírez Moreno *et. al.*, 2013). En este último se observó que dicho biopolímero observa un comportamiento pseudoplástico al formar un gel, con comportamiento y valores similares a la goma xantana y menores a la carragenina, almidón

y geles de pectina (Marcotte *et. al.*, 2001). Es decir, el comportamiento del mucílago del nopal dentro de un producto alimenticio puede afectar la retención y absorción de agua, según el tratamiento térmico al que ha sido sometido.

Las fibras presentes en el alga también han sido estudiadas. Éstas presentan características importantes en su capacidad de hinchamiento y retención de agua. Bajo tratamientos térmicos a 60°C y 80°C, se ha observado que retienen entre 6.6g – 7g de agua por materia seca (Yaich *et. al.*, 2011), resultado similar a lo observado en nuestros datos. Es importante hacer notar que la capacidad de hinchamiento, retención y solubilidad en agua de las algas no sólo está dado por las fibras solubles, sino también por la proteína y depende de diversos factores como el tratamiento térmico, pH, fuerza iónica, presencia de calcio, entre otros (Fleury y Lahaye, 1991). Por lo tanto, podemos observar de manera clara que el efecto sobre los valores de IAA en las formulaciones con nopal y alga está directamente relacionado con la fibra de ambas harinas.

Reuniendo los datos de CAA, rendimiento de masa y tortilla para ambos grupos de formulaciones, se observa que el comportamiento reológico de las masas fortificadas es análogo al de la masa TR, aumentando la cantidad de agua absorbida sin aumentar su pegajosidad.

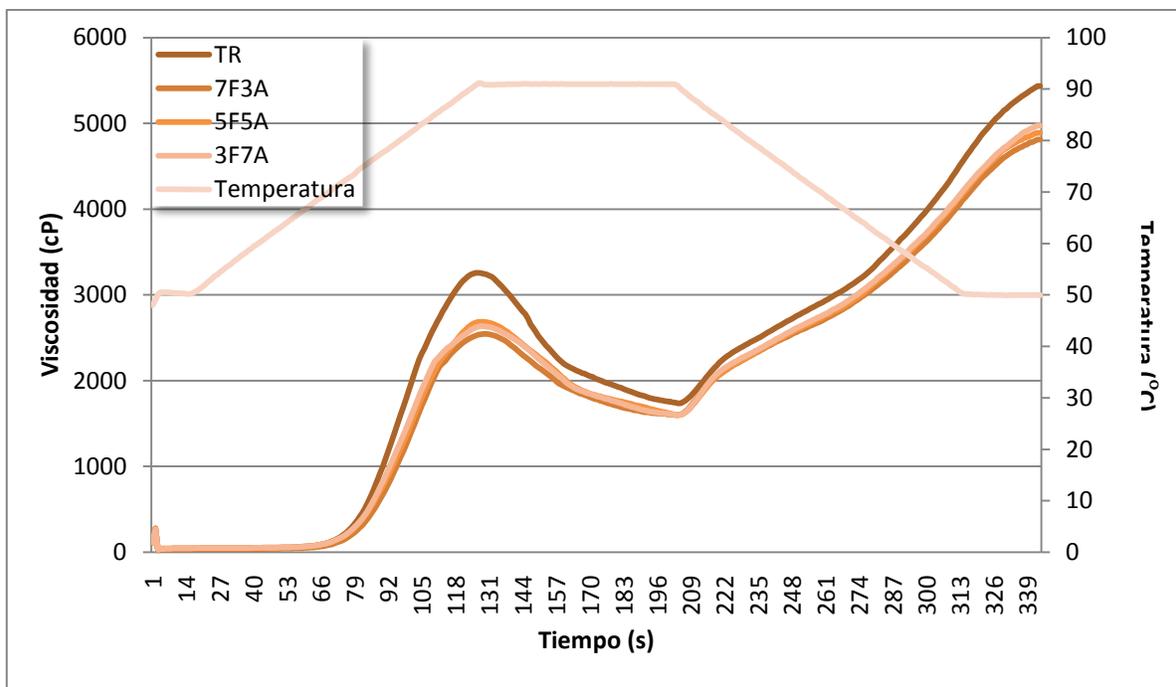
## Propiedades térmicas de masas

Como se menciona en el apartado anterior, la presencia de almidones y biopolímeros de otras fuentes, la variación de la relación amilosa – amilopectina, y el evidente procesado, principalmente térmico, de nuestras materias primas, modifica la estructura y comportamiento del almidón, haciendo variar la viscosidad y la temperatura de gelatinización de este.

La viscosidad es la resistencia u oposición de un fluido a las deformaciones tangenciales. En el caso del almidón, compuesto polimérico presente en altas cantidades en los cereales, sufre cambios morfológicos y espaciales de suma importancia en los procesos térmicos a los que son sometidos los granos. El comportamiento de la viscosidad de las masas fortificadas con proteína (Figura 7) no mostraron una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) al compararlos con TR, bajo las condiciones del análisis de la viscosidad rápida (RVA, por sus siglas en inglés); 90°C, por 5 minutos. La curva presentada, tanto por las formulaciones como por TR, muestran los 3 estadios característicos de un perfil amilográfico: acoplamiento, disociación y reasociación molecular, dando la mayor viscosidad en un rango de 2,500 – 3,000cP a 90°C. Este comportamiento nos da a entender que, aún con las diferencias entre los tratamientos experimentales y TR, la conducta de las mezclas de harinas es análoga al control.

Es importante hacer notar que la presencia de una mayor cantidad de almidones tratados térmicamente, así como el cambio en el rango de amilosa – amilopectina presentes en la muestra analizada decrecen los valores de viscosidad (Rodríguez Sandoval *et. al.*, 2005). El amaranto utilizado dentro de la investigación es un amaranto tratado térmicamente mediante el proceso denominado “puffing”, así como una molienda y tamizado por malla #40 (Aguirre-Flores, 1996); caso similar el frijol, el cual fue remojado, cocido, secado, molido y posteriormente tamizado (Cárdenas-Quintana *et. al.*, 2000). Estos hechos pueden explicar la baja de viscosidad mostrada en los tratamientos; además del propio tratamiento de nixtamalización de la harina TR, causa principal del decremento de la viscosidad en almidones de maíz, comparados con almidones nativos (Méndez-Montalvo *et. al.*, 2006).

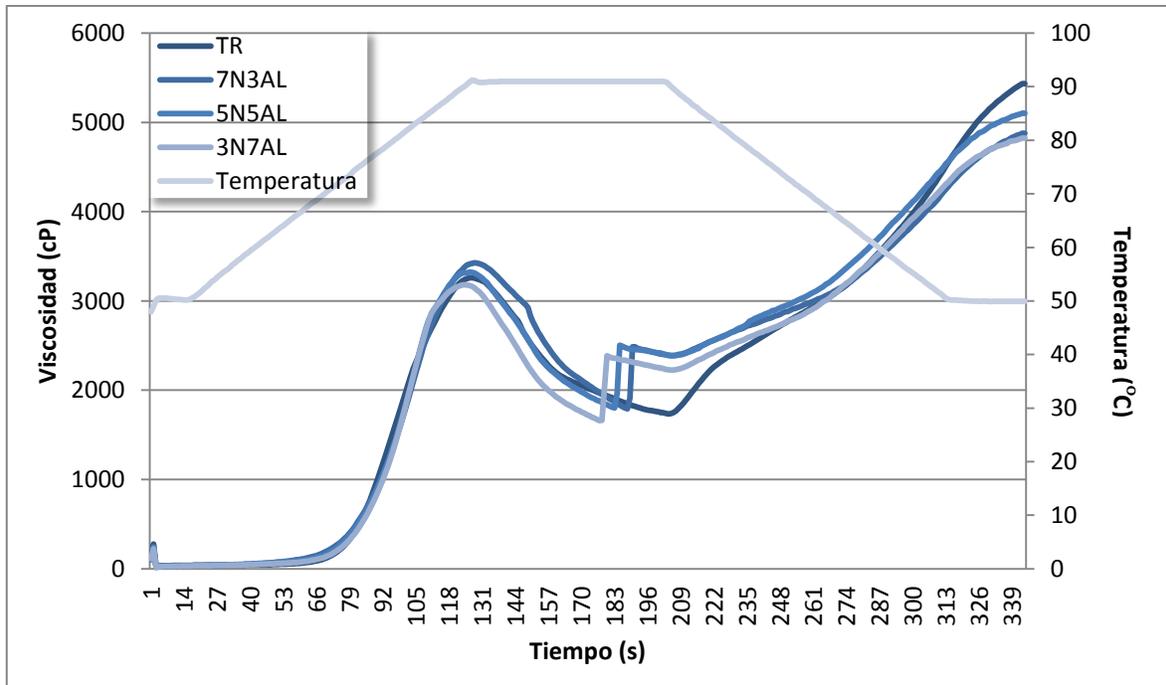
Otro factor a considerar en los cambios de viscosidad de masas es la presencia de una mayor cantidad de proteína, ya que se ha observado que a mayor concentración de proteína, la viscosidad resulta afectada, cambiando el termograma resultante del análisis (Wannenberger y Eliasson, 1993).



**Fig.7. Análisis de viscosidad de formulaciones de harina de maíz fortificada con diferentes proporciones de frijol y amaranto (7F3A, 5F5A, 3F7A) con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado (TR).**

Sobre los resultados arrojados por las formulaciones con nopal y alga (Fig. 8), se puede observar que hay un comportamiento similar a TR, excepto entre los 170 – 220 segundos a 90°C, donde se muestra un aumento significativo en la viscosidad de las muestras experimentales, pasando de 1,800cP a 2,500cP, valor promedio. Este pico genera una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la viscosidad aparente.

La presencia de dicho pico sugiere una alta cantidad de fibra, tanto soluble como insoluble. En estudios sobre la inclusión de nopal en tortillas de maíz, se ha observado y estudiado ampliamente este comportamiento. Se ha determinado que la presencia de este pico de viscosidad aparente representa el cambio dado por la absorción de agua provocado por las gomas (Flores Farías *et. al.*, 2002). Además, se ha observado que una inclusión mayor al 4% de harina de nopal decrece el desarrollo de viscosidad. Una mayor cantidad de ésta o de concentraciones de fibra, decrecen los valores de viscosidad, creando sistemas multifase, reduciendo el proceso de retrogradación de almidón (Chaisawang y Suphantharika, 2006; Cornejo Villegas *et. al.*, 2010). Es decir, hay una competencia por el agua entre el almidón gelatinizado y la fibra soluble dentro del sistema (Cornejo Villegas *et. al.*, 2010).



**Fig. 8.** Análisis de viscosidad de formulaciones de harina de maíz fortificada con diferentes proporciones de nopal y alga (7N3AL, 5N5AL, 3N7AL) con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado (TR).

Para complementar estos datos, se realizó el análisis térmico del almidón. Dicho análisis comprende el fenómeno de gelatinización, arrojando las temperaturas de inicio ( $T_o$  o Tonset), pico ( $T_p$ ) y final ( $T_e$ ), así como también la cantidad de energía requerida para llevar a cabo la fenómeno (entalpía de gelatinización o  $\Delta H$ ). Tanto en muestras proteicas (Tabla 22) como en muestras con fibra dietética (Tabla 23), se presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en los valores de Tonset, no así en  $T_p$  y  $\Delta H$ , presentando valores dentro de los registrados para harinas de maíz nixtamalizado (Mondragón *et. al.*, 2004; Méndez *et. al.*, 2006).

En investigaciones previas, se ha observado que mientras mayor sea el valor de Tonset, las muestras presentan una mayor cantidad de proteína y un proceso físico y térmico más exhaustivo (Wannenberger y Eliasson, 1993; Sandoval-Aldana *et. al.*, 2005), como en el caso de este estudio. Estos datos son soportados con los valores observados en  $\Delta H$ , los cuales sugieren condiciones severas en el proceso; debido a que algunos almidones pierden su birefringencia, así como necesitan una menor cantidad de energía para pasar a la fase de

transición (Méndez-Montalvo *et. al.*, 2006), además del proceso de competencia entre almidones gelatinizados y la fibra soluble (Cornejo Villegas *et. al.*, 2010).

**Tabla 22. Temperaturas de gelatinización inicial y final y entalpía de gelatinización de formulaciones de harina de maíz fortificada con frijol y amaranto con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado.**

Muestra	Entalpía de gelatinización $\Delta H$ (mJ)	Tonset ( $^{\circ}\text{C}$ )	Tp ( $^{\circ}\text{C}$ )
TR	6.30 <sup>a</sup>	64.43 <sup>a</sup>	71.11 <sup>a</sup>
7F3A	6.98 <sup>a</sup>	64.91 <sup>b</sup>	71.73 <sup>a</sup>
5F5A	6.35 <sup>a</sup>	65.29 <sup>b</sup>	71.83 <sup>a</sup>
3F7A	6.92 <sup>a</sup>	64.69 <sup>b</sup>	71.31 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

**Tabla No. 23. Temperaturas de gelatinización inicial y final y entalpía de gelatinización de formulaciones de harina de maíz fortificada con nopal y alga con respecto a harina comercial de maíz nixtamalizado.**

Muestra	Entalpía de gelatinización $\Delta H$ (mJ)	Tonset ( $^{\circ}\text{C}$ )	Tp ( $^{\circ}\text{C}$ )
TR	6.30 <sup>a</sup>	64.43 <sup>a</sup>	71.11 <sup>a</sup>
3N7AL	7.13 <sup>a</sup>	65.87 <sup>b</sup>	72.67 <sup>a</sup>
5N5AL	6.45 <sup>a</sup>	65.51 <sup>b</sup>	72.08 <sup>a</sup>
7N3AL	7.83 <sup>a</sup>	65.69 <sup>b</sup>	72.47 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Por lo tanto, se observaron diferencias en el comportamiento de la viscosidad de las masas de harina fortificada pero sin presentar cambios significativos para las muestras con proteína, no así para las muestras con fibra dietética. Estos cambios, significativos o no, se deben a la presencia de mayor porcentaje de proteína y fibra en las masas, así como el cambio en la relación amilosa - amilopectina y la competencia del almidón retrogradado *versus* la fibra soluble presente en las muestras.

## Propiedades de textura de tortillas

Las características de las propiedades de textura son importantes desde el punto de vista de calidad, así como con el grado de aceptación por el consumidor. Estas características de aceptabilidad, se relacionan con evaluaciones objetivas y subjetivas de dureza y rolabilidad, dentro de estas tenemos: trabajo, fuerza de corte, distancia de ruptura y rolabilidad subjetiva (Tabla 24 y 25).

Dentro de los resultados arrojados para las muestras con frijol y amaranto, se presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los parámetros de fuerza de extensibilidad, distancia y fuerza de corte; lo que significa que nuestros tratamientos son más suaves y por lo tanto, más fáciles de cortar que TR, siendo la formulación con mayor cantidad de amaranto (3F7A) la que presenta los valores menores, es decir, la más suave de las tortillas.

Este resultado manifiesta la introducción de la harina de amaranto, ya que la inclusión de ésta hace más suave y más húmeda, tanto la masa como la tortilla, afectando propiedades de textura en las tortillas (Aguirre-Flores, 1996; Méndez-Albores *et. al.*, 2003). Sin embargo, las tortillas fortificadas y aún TR, presenta valores menores a los reportados en literatura para los diferentes tratamientos de tortilla a nivel laboratorio (Martínez *et. al.*, 2001) o con tortillas comerciales fortificadas con 4% y 6% de soya (Figuroa Cárdenas *et. al.*, 2001), ya que en este caso, no hubo un control directo de las condiciones de nixtamalización del grano de maíz y por ende, del almidón presente. Sin embargo, se encuentran dentro del rango de tensión, corte y rolabilidad reportados para tortillas nixtamalizadas con frijol blanco entre 5% y 10% (Cuevas Martínez *et. al.*, 2010).

Referente a la rolabilidad, las tortillas son equivalentes al control TR (Tabla 24), probablemente porque la medición se realizó para las tortillas en fresco, es decir, en tortillas preparadas al mismo tiempo y con el mismo tiempo de enfriamiento (30 minutos), aunque generalmente la medición de la rolabilidad se realiza para referir la vida de anaquel de las tortillas. Es importante resaltar que a pesar de existir la metodología para realizar la medición de rolabilidad objetiva, por lo general, las mediciones de rolabilidad se hacen subjetivamente, como en este trabajo.

**Tabla 24. Análisis de fuerza de tensión, y corte, distancia de ruptura y rolabilidad subjetiva de formulaciones de tortillas fortificadas con frijol y amaranto con respecto a tortillas de harina comercial de maíz nixtamalizado<sup>2</sup>.**

Tratamiento	Fuerza de tensión (N)*	Distancia de ruptura (mm) *	Trabajo de corte (N)^	Rolabilidad (subjetiva) <sup>1,3</sup>
TR	1.65 <sup>b</sup>	6.03 <sup>c</sup>	6.66 <sup>c</sup>	1 <sup>a</sup>
7F3A	1.16 <sup>a</sup>	4.15 <sup>a</sup>	5.98 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>
5F5A	1.15 <sup>a</sup>	5.33 <sup>b</sup>	5.22 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>
3F7A	1.09 <sup>a</sup>	4.98 <sup>b</sup>	4.75 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>

\*Promedio de cuatro repeticiones.

^ Promedio de seis repeticiones.

<sup>1</sup>Promedio de quince repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

<sup>3</sup>Rolabilidad de tortilla: 1 = tortilla sin rompimiento, 2 = parcial rompimiento en el centro y bordes de la tortilla y 3 = tortilla con daño completo.

**Tabla 25. Análisis de fuerza de tensión y corte de formulaciones de tortillas fortificadas con nopal y alga con respecto a tortillas de harina comercial de maíz nixtamalizado.**

Tratamiento	Fuerza de tensión (N)*	Distancia de ruptura (mm) *	Trabajo de corte (N)^	Rolabilidad (subjetiva)
TR	1.65 <sup>a</sup>	6.03 <sup>c</sup>	6.66 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>
3N7AL	1.51 <sup>a</sup>	4.90 <sup>b</sup>	6.33 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>
5N5AL	1.47 <sup>a</sup>	4.83 <sup>b</sup>	6.51 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>
7N3AL	1.39 <sup>a</sup>	3.11 <sup>a</sup>	5.62 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>

\*Promedio de cuatro repeticiones.

^ Promedio de seis repeticiones.

<sup>1</sup>Promedio de quince repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

<sup>3</sup>Rolabilidad de tortilla: 1 = tortilla sin rompimiento, 2 = parcial rompimiento en el centro y bordes de la tortilla y 3 = tortilla con daño completo.

Sobre las formulaciones con nopal y alga (Tabla 25), se observaron tortillas con la misma fuerza de extensión y corte, fáciles de rolar. En el parámetro donde se observó una diferencia significativa (p< 0.05) fue en la distancia de ruptura, presentando valores menores en todas las formulaciones fortificadas. A su vez, se observó que al incrementar la cantidad de nopal y disminuir el porcentaje de alga (7N3AL), esta muestra diferencia

significativa en distancia de ruptura y fuerza de corte, por lo que se vuelven más suaves y fáciles de cortar.

Estos datos corroboran los valores dados por el análisis de viscosidad aparente (RVA). En dicho apartado se comenta sobre el efecto de la fibra dietética, tanto soluble como insoluble, en el comportamiento en la masa, mostrando la formación de un sistema multifásico dado por la presencia de mayor cantidad de FD, tanto FI como FS. En este caso, al pasar un proceso térmico, los procesos de hidratación dentro de la tortilla se ven afectados por la presencia de la FD, haciendo tortillas ligeramente más fáciles de cortar al momento de su realización.

Por ejemplo, en tortillas hechas con 48% de nopal, se produjeron tortillas más suaves y con menor dureza que las control de 100% maíz, al momento de realizarse (Guevara Arauza *et. al.*, 2011). Otro caso similar es que la inclusión de FI al 6% afecta las propiedades fisicoquímicas y reológicas, tanto de masas como de tortillas. En dicho reporte se encontró que la tortilla resultante es más suave y decrece el rango de deshidratación debido a la presencia de ésta (Arámbula *et. al.*, 2002). En ambos casos, los cambios texturales fueron atribuidos a la mayor presencia de FD, debido al conocimiento de que ciertos carbohidratos ayudan a la retención de humedad, modificando la textura y previniendo la pérdida de humedad como consecuencia. Por lo tanto, podemos comentar que nuestras formulaciones fortificadas con fibra son más suaves y menos duras que TR debido a la presencia de las fibras y su propiedad de retención de agua; todo esto al estar recién hechas.

Con base en los resultados, las formulaciones fortificadas con frijol y amaranto fueron ligeramente menos luminosas y más amarillas, además de más suaves que TR, debido a una mayor presencia de almidones gelatinizados. En el caso de las fortificadas con nopal y alga, se obtuvieron tortillas menos luminosas y verdes, así mismo, más suaves y fáciles de romper que TR debido al aumento en la cantidad de FD. Ambos grupos presentan un rendimiento de masa y tortilla y enrolamiento análogo a TR.

Por lo tanto, se obtuvieron formulaciones fortificadas con un nivel de calidad cercano a TR, ya que una tortilla que enrolle fácilmente, presente una clara definición de forma y una textura apropiada o similar a la tortilla regular indica un adecuado procesamiento con las concentraciones apropiadas de las materias primas utilizadas para la obtención de la misma (Vázquez Carrillo *et. al.*, 2003), lo que genera una tortilla aceptable, tecnológicamente.

## Polifenoles totales y actividad antioxidante

Concerniente a las formulaciones con harina de frijol y amaranto; la harina de frijol contiene la mayor concentración de polifenoles totales, con 6.10 mg equivalentes de ácido gálico (mg GAQ/g de muestra), después la harina de amaranto, con 5.58 mg GAQ/g de muestra. Ambas muestras se exponen aquí para mostrar la cantidad total de polifenoles de las materias primas (Tabla 26). De las formulaciones de harinas para tortilla, se observa que no hay diferencia significativa entre TR y 7F3A, 5F5A y 3F7A, mostrando entre 2.36 – 2.39 mg GAQ/g muestra, aumentando solo 20% la cantidad de polifenoles totales. Al procesarlas para la elaboración de tortillas, se observó una disminución de alrededor del 70% para todas las formulaciones, obteniendo un valor medio de 0.65 mg GAQ/g de muestra.

**Tabla 26. Concentración de polifenoles totales en harinas y tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones<sup>1,2</sup>.**

	Polifenoles totales (mg GAQ /g) en harina	Polifenoles totales (mg GAQ /g) en tortilla
<b>HF<sup>3</sup></b>	6.10 <sup>c</sup>	---
<b>HA<sup>4</sup></b>	5.58 <sup>b</sup>	---
<b>TR</b>	1.99 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
<b>7F3A</b>	2.39 <sup>a</sup>	0.68 <sup>a</sup>
<b>5F5A</b>	2.38 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>
<b>3F7A</b>	2.36 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup> Valores promedio en la columna con diferente letra son significativamente diferentes (p<0.05).

<sup>3</sup>HF = harina de frijol. <sup>4</sup>HA = harina de amaranto.

Los valores arrojados por los análisis son cercanos a otros reportados en literatura. En el caso de amaranto, se reporta una cantidad entre 4 y 4.40 mg GAQ/ g de muestra seca (Pasko *et. al.*, 2008). Anteriormente se ha reportado una cantidad de polifenoles totales de 5.55mg GAQ/g de muestra para harina de frijol negro (Grajales García *et. al.*, 2012), 3.19 mg equivalentes de ácido ferúlico (FAE) / g de muestra para frijol blanco y hasta 11.93 mg FAE/g de muestra para frijol rojo (Anton *et. al.*, 2009).Al igual que para frijol, el rango de datos para maíz es mayor, debido a las diversas variedades coloreadas que se cultivan. En el caso del maíz blanco y amarillo (usados para nixtamalización), los valores medios son de

1.04 – 1.07 mg GAQ/g de muestra (López Martínez *et. al.*, 2009; Saura Calixto *et. al.*, 2007).

En diversos reportes se han obtenido para mezclas de maíz/frijol extruidas, en relación 90/10, valores de 0.75mg FAE/g de muestra y valor medio de 10 mg eq de (+)-catequina/ g de muestra para taninos condensados (Anton *et. al.*, 2009). En muestras de maíz QPM nixtamalizado, más harina de frijol negro (70/30), el valor para polifenoles fue de 1.99 mg GAQ/g de muestra (Grajales García *et. al.*, 2012).

Sobre la actividad antioxidante expresada como equivalentes de trolox (TEAC  $\mu\text{mol/kg}$  de muestra), mediante el método ABTS, se observa el mismo comportamiento que para polifenoles totales (Tabla 27). La harina de frijol presenta el valor mayor, con 21.95 TEAC  $\mu\text{mol/g}$  de muestra, siguiendo la harina de amaranto con 11.17 TEAC  $\mu\text{mol/g}$  de muestra. Tanto la harina de TR como las harinas fortificadas no muestran diferencias significativas entre sí, mostrando valores entre 12.71 a 13.31 TEAC  $\mu\text{mol/g}$  de muestra, promedio. Después de la elaboración y cocción de la tortilla de cada una de las harinas, se observó una grave disminución, (entre 90 y 92%) de la actividad antioxidante como TEAC  $\mu\text{mol/g}$ , para las 4 formulaciones.

**Tabla 27. Actividad antioxidante ABTS ( $\mu\text{mol/kg}$ ) de harinas y tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones<sup>1,2</sup>.**

	Actividad Antioxidante (TEAC $\mu\text{mol/kg}$ ) en harina	Actividad Antioxidante (TEAC $\mu\text{mol/kg}$ ) en tortilla
<b>HF<sup>3</sup></b>	21.95 <sup>b</sup>	---
<b>HA<sup>4</sup></b>	11.17 <sup>a</sup>	---
<b>TR</b>	12.71 <sup>a</sup>	1.12 <sup>a</sup>
<b>7F3A</b>	13.31 <sup>a</sup>	1.13 <sup>a</sup>
<b>5F5A</b>	13.09 <sup>a</sup>	1.05 <sup>a</sup>
<b>3F7A</b>	12.88 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup> Valores promedio con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>3</sup>HF = harina de frijol. <sup>4</sup>HA = harina de amaranto.

Para las harinas y tortillas fortificadas con fibra, el valor mayor de polifenoles totales lo arrojó la harina de nopal (HN), con 4.25 mg GAQ/g de muestra. Le siguió, en orden descendente, la harina de alga (HAL) con 3.67 mg GAQ/g de muestra. Ambas mostraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a la harina de maíz nixtamalizado (TR) y las muestras fortificadas. Éstas mostraron un valor de 1.99 mg y 2.19 mg GAQ/g de muestra, respectivamente (Tabla 28). Al igual que en las formulaciones anteriores, la disminución en el proceso de harina a tortilla fue de manera drástica, disminuyendo en valores cercanos al 70% de mg GAQ/ g de muestra.

Siguiendo la misma relación a las fortificaciones anteriores y los valores propios de polifenoles totales, HN presentó la mayor actividad antioxidante ABTS, con 34.56  $\mu\text{mol TEAC/g}$  de muestra seca. Entre ésta y HAL (32.29  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) no se presentó diferencia significativa; no así para TR y las harinas fortificadas con fibra ( $p < 0.05$ ), arrojando valores de 12.71  $\mu\text{mol TEAC/g}$  y 14.78  $\mu\text{mol TEAC/g}$ , respectivamente. La disminución de actividad antioxidante en el procesado fue de un 90%, valor promedio (Tabla 29).

**Tabla 28. Concentración de polifenoles totales en harinas y tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones<sup>1,2</sup>.**

	Polifenoles totales (mg GAQ /g) en harina	Polifenoles totales (mg GAQ /g) en tortilla
<b>HN<sup>3</sup></b>	4.25 <sup>c</sup>	---
<b>HAL<sup>4</sup></b>	3.67 <sup>b</sup>	---
<b>TR</b>	1.99 <sup>a</sup>	0.61 <sup>a</sup>
<b>7N3AL</b>	2.20 <sup>a</sup>	0.65 <sup>a</sup>
<b>5N5AL</b>	2.19 <sup>a</sup>	0.63 <sup>a</sup>
<b>3N7AL</b>	2.18 <sup>a</sup>	0.70 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup> Valores promedio en la columna con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>3</sup>HN = harina de nopal. <sup>4</sup>HAL = harina de alga.

**Tabla 29. Actividad antioxidante ABTS ( $\mu\text{mol/Kg}$ ) de harinas y tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones<sup>1,2</sup>.**

	Actividad Antioxidante (TEAC $\mu\text{mol/g}$ ) en harina	Actividad Antioxidante (TEAC $\mu\text{mol/g}$ ) en tortilla
<b>HN<sup>3</sup></b>	34.56 <sup>c</sup>	---
<b>HAL<sup>4</sup></b>	32.29 <sup>c</sup>	---
<b>TR</b>	12.71 <sup>a</sup>	1.12 <sup>a</sup>
<b>7N3AL</b>	14.82 <sup>b</sup>	1.47 <sup>a</sup>
<b>5N5AL</b>	14.78 <sup>b</sup>	1.52 <sup>a</sup>
<b>3N7AL</b>	14.73 <sup>b</sup>	1.61 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup> Valores promedio con diferente letra son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>3</sup>HN = harina de nopal. <sup>4</sup>HAL = harina de alga.

Por lo tanto, en ambos grupos de tratamientos se observa el mismo comportamiento; una pérdida de alrededor del 70% de polifenoles totales y un 90% de actividad antioxidante en el proceso de cocción de tortilla. Dicho comportamiento se ha observado y estudiado a profundidad en los últimos años, tanto en maíz como en las demás materias primas. Éstos se detallan a continuación.

En el caso del maíz, se ha encontrado que contiene una alta concentración de ácido cumárico y ferúlico, además de poder encontrar cantidades significativas de antocianinas y carotenoides, según variedad. Sin embargo, el proceso térmico, especialmente el nixtamalizado, afecta la cantidad y la estructura química de éstos. En el caso particular de la nixtamalización, durante el cocimiento alcalino del maíz muchos de los fitoquímicos que se encontraban originalmente ligados a la matriz amilácea y fibrosa, se solubilizan o se transforman en moléculas menos complejas con mayor bioactividad, particularmente compuestos antioxidantes; otros pueden lixiviar al nejayote, perdiéndose y siendo desechados (Gutiérrez Uribe *et. al.*, 2012).

Por lo tanto, la concentración presente de fitoquímicos entre grano, harina y tortilla puede variar ampliamente, según la naturaleza del producto y el procesamiento al que es sometido. Por ejemplo, en un proceso de nixtamalización ecológica, se han reportado en granos de maíz blanco, amarillo y negro Humilpan valores de 40 – 80 mg FAE/kg de

muestra, mientras que en las harinas respectivas valores medios de 24.5 – 67.4 mg FAE/kg de muestra. A su vez, la actividad antioxidante (DPPH) entre grano, harina y tortilla disminuye de 2,450 – 2,980 mg ácido ascórbico (A.A.)/kg de muestra a 2,140 – 2,910 mg A.A. /kg de muestra y 1,630 – 2,690 mg A.A./kg de muestra, respectivamente (Rodríguez Méndez y Figueroa Cárdenas, 2012). Es decir, se presentó una pérdida de 50% de polifenoles en la transformación de grano a harina y una pérdida de alrededor del 20% de actividad antioxidante (DPPH).

En el caso de frijol y amaranto, se ha observado que entre los compuestos bioactivos o nutraceuticos del frijol, destacan los compuestos fenólicos, la fracción indigerible (fibra total dietética y péptidos bioactivos) con propiedades biológicas importantes relacionadas con la reducción del riesgo de padecer enfermedades crónico degenerativas (Xu y Chang, 2007a; Xu y Chang 2008; Xu y Chang 2009). La concentración y tipo de polifenoles cambia según la variedad de frijol, encontrándose la mayoría en la testa. De esta se obtienen cantidades importantes de quercetina 3 – O – glucorona, proantocianidinas como prodelfinidinas y propelargonidinas (Crozier, Jaganath y Clifford, 2009).

De acuerdo a reportes, los tratamientos térmicos a los que se tiene que someter al frijol para su uso como alimento causan incrementos importantes en las cantidades de ácido gálico, provocando un decremento de otros ácidos fenólicos y derivados, como ácidos benzoicos, cinámicos, entre otros (Xu y Chang, 2009). Estos cambios suceden debido a 3 procesos: 1) la degradación oxidativa de los ácidos fenólicos, incluyendo oscurecimiento enzimático, 2) la liberación de los ácidos fenólicos de sus formas conjugadas y 3) la formación de complejos con proteínas, taninos y antocianinas (Fleuriet y Macheix, 2003), lo que provoca pérdida tanto en cantidad como en niveles detectables.

Para amaranto, se ha estudiado la termoestabilidad de los compuestos fenólicos de amaranto bajo diversas condiciones (cocción, “puffing”, tostado, extruido y molido) y se ha encontrado que el procesado reduce alrededor del 30% de los polifenoles totales (GAQ/g de muestra seca), haciendo lo mismo con la capacidad antioxidante (Queiroz *et. al.*, 2009). Es decir, los fitoquímicos del grano de amaranto son particularmente susceptibles a procesos térmicos, principalmente a procesos hidrotérmicos, en comparación a cereales verdaderos y leguminosas, pudiendo disminuir su cantidad hasta en un 70% en equivalentes de catequina (Kunyanga *et. al.*, 2012). Por lo tanto, tenemos 2 materias primas para la fortificación de proteína que sufren pérdidas importantes de fitoquímicos con actividad antioxidante, ya seas por degradación oxidativa o por el propio proceso térmico al que es sometido.

Para las harinas de nopal y alga, se ha reportado en nopal, cantidades de polifenoles totales entre 5.71 – 3.82 GAQ mg/g de muestra sin procesar. Al hacer pasar el cladodio de nopal por un proceso de cocción, los niveles disminuyen entre 3.75 – 3.16 GAQ mg/g de muestra. Es decir, la retención de los polifenoles totales en nopal después de un proceso térmico húmedo es alrededor del 50%. Este comportamiento también se observa en su capacidad antioxidante (ABTS), en donde la muestra sin procesar observa valores cercanos a 15 TEAC  $\mu\text{mol/g}$ , al procesarla térmicamente, disminuye hasta 6.08 TEAC  $\mu\text{mol/g}$  de muestra, lo que significa una disminución de alrededor del 70% (Jaramillo Flores *et. al.*, 2003; Ramírez Moreno *et. al.*, 2013).

Es importante hacer notar que los cladodios de nopal son ricos en vitamina A, C y E, por lo que su capacidad antioxidante no está directamente relacionada a la concentración de polifenoles presentes, sino que ésta depende principalmente de la concentración final de beta caroteno, ácido ascórbico y tocoferoles presentes en la muestra de nopal (Santos Zea *et. al.* 2011; Ramírez Moreno *et. al.*, 2013).

Caso similar es el del alga, donde se pueden encontrar diversos polifenoles, así como otros fitoquímicos que proporcionan actividad antioxidante. Se han reportado polifenoles totales en cantidad de 10.84 GAQ mg/g de materia seca y una actividad antioxidante (FRAP) de 464  $\mu\text{mol/g}$  de alga seca (García Casal *et. al.*, 2009). Se han reportado valores menores (2.02 GAQ mg/g de alga seca) al estudiar la concentración de flavonoides en *Ulva lettucea* pero indicando la posible presencia de otros polifenoles, mediante análisis de FTIR (Meenakshi *et. al.*, 2009).

Además, es de esperarse que el alga *U. clathrata* contenga cantidades importantes de clorofilas y otro compuestos que aporten una actividad antioxidante. Existen datos específicos para esta especie, reportando de 250 – 441 mg kg<sup>-1</sup> de carotenoides totales y entre 10.2 – 35.2 mg kg<sup>-1</sup> de xantofilas totales (Peña Rodríguez *et. al.*, 2011). Para otras especies del género *Ulva* se han reportado (base húmeda) clorofilas totales (0.508mg/g), vitamina C (42.6 mg/g ) y un contenido medio de polifenoles totales de 5.45 mg/g (Burtin, 2003; Abirami y Kowsalya, 2011), así como  $\alpha$ -tocoferol (258mg/kg) y  $\gamma$ -tocoferol (963.5mg/kg), ambos en base seca (Ortiz *et. al.*, 2006). También se han encontrados otros compuestos con actividad antioxidante en este género de alga, como dimetilsulfonopropionato y dimetilsulfido (Sunda *et. al.*, 2002) y Hierro en su forma reducida (Jiménez Escrig *et. al.*, 2001; Qi *et. al.*, 2006; Yuan y Walsh, 2006). Por lo tanto, en el caso de las formulaciones con nopal y alga, se presentan materias primas con sensibilidad a los procesos térmicos pero que exhiben una gama más amplia de

antioxidantes, lo que genera una mayor diversidad y complejidad al estudio de los mismos y su actividad antioxidante.

Por lo tanto, los datos consultados en literatura ayudan a concluir que los diferentes procesos térmicos para la obtención de harinas y tortillas cambian o disminuyen las concentraciones de fitoquímicos con capacidad antioxidante, por lo que el producto terminado no cumple con aumentar la cantidad de antioxidantes. Además, el contar con una amplia gama de métodos de cuantificación e identificación, así como de compuestos con actividad antioxidante dentro de las materias primas, incrementa la diversidad de estudio en esta área, siendo un área de oportunidad para futuras investigaciones.

**CAPITULO 2**  
**EVALUACIÓN SENSORIAL Y VIDA ÚTIL DE TORTILLAS**  
**FORTIFICADAS**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Evaluación sensorial de tortillas y vida de anaquel.**

Las características de textura y color de las tortillas son importantes porque nos dan una idea de la calidad de los productos, sin embargo, las características de aceptabilidad del producto tales como sabor, el color, el olor y la textura las debe definir el consumidor. En este estudio se hizo una evaluación de la aceptabilidad general de los productos elaborados.

El análisis sensorial realizado a 40 personas entre 18 y 25 años de edad (22 mujeres y 18 hombres) consistió en una escala hedónica de 9 puntos. En la escala se evaluó las 4 diferentes muestras, midiendo su nivel de agrado y se hacía señalar cuál fue la de mayor agrado (Fig. 9 y 10).

Dentro de los resultados para las formulaciones con frijol y amaranto, se observó que el tratamiento de mayor aceptación en la prueba de escala hedónica es la muestra de 100% maíz nixtamalizado (TR), la cual presenta la mayor frecuencia dentro de los parámetros de agrado (5 – 9) en la escala hedónica. En orden de mayor a menor agrado fueron: 3F7A, 7F3A y finalmente, 5F5A, la cual presenta poca aceptación, siendo en su mayoría valorada dentro del nivel no aceptable (4 = me desagrada un poco).

Las características negativas que el panel le atribuyó a ésta, así como en algunos casos, a 7F3A, fueron: “presenta sensación arenosa”, “está ‘masuda’”, “se siente seca por fuera y algo húmeda por dentro” y “un resabio arenoso”. En ningún caso se hizo señalamiento del color u olor de las muestras.

En la Fig. 10, podemos observar que dentro de los tratamientos con nopal y alga, el de mayor aceptación fue la muestra de 100% maíz nixtamalizado (TR), la cual presenta la mayor frecuencia dentro de los niveles 5 (me es indiferente) hasta el nivel 9 (me es muy agradable), siendo su pico máximo en el nivel 8 (me gusta mucho). En orden de mayor a menor agrado se presentaron: 3N7AL, 5N5AL y finalmente, 7N3AL. Esta última presenta poca aceptación, siendo en su mayoría valorada dentro del nivel no aceptable (4 = me desagrada un poco). Las características negativas que el panel le atribuyó a los tratamientos

experimentales fueron: “presenta sensación arenosa”, “resabio arenoso”, “resabio a sushi”, “color poco agradable”.

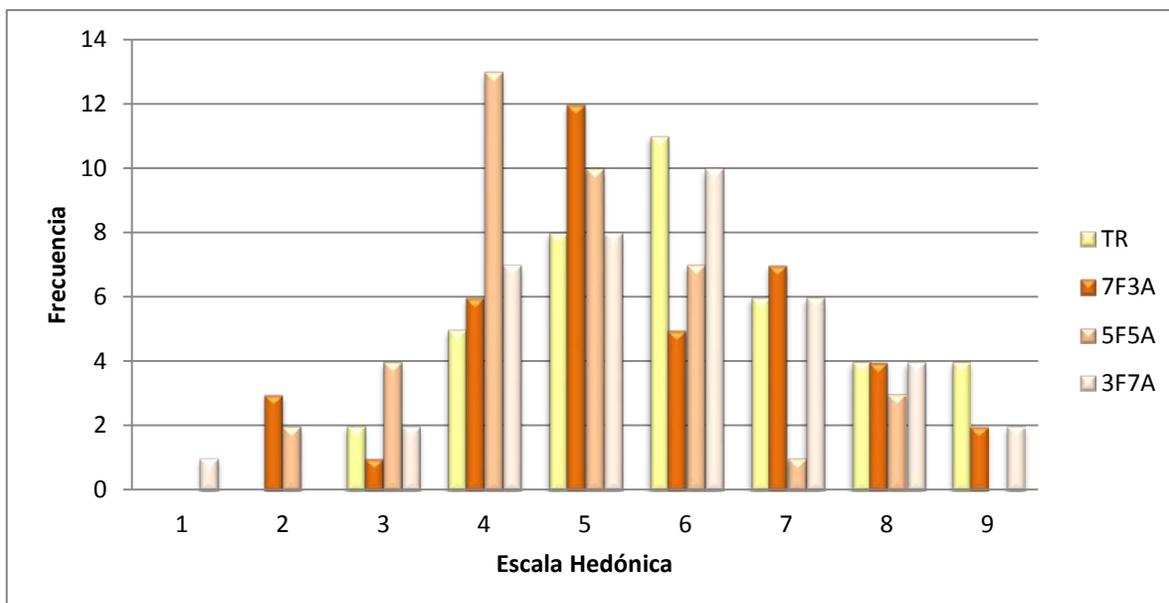


Fig 9. Escala hedónica para los tratamientos de tortilla fortificada con harina de frijol y amaranto a 3 diferentes concentraciones (1. Me es muy desagradable, 2. Me desagrada mucho, 3. Me desagrada, 4. Me desagrada un poco, 5. Me es indiferente, 6. Me gusta un poco, 7. Me gusta, 8. Me gusta mucho, 9. Me es muy agradable).

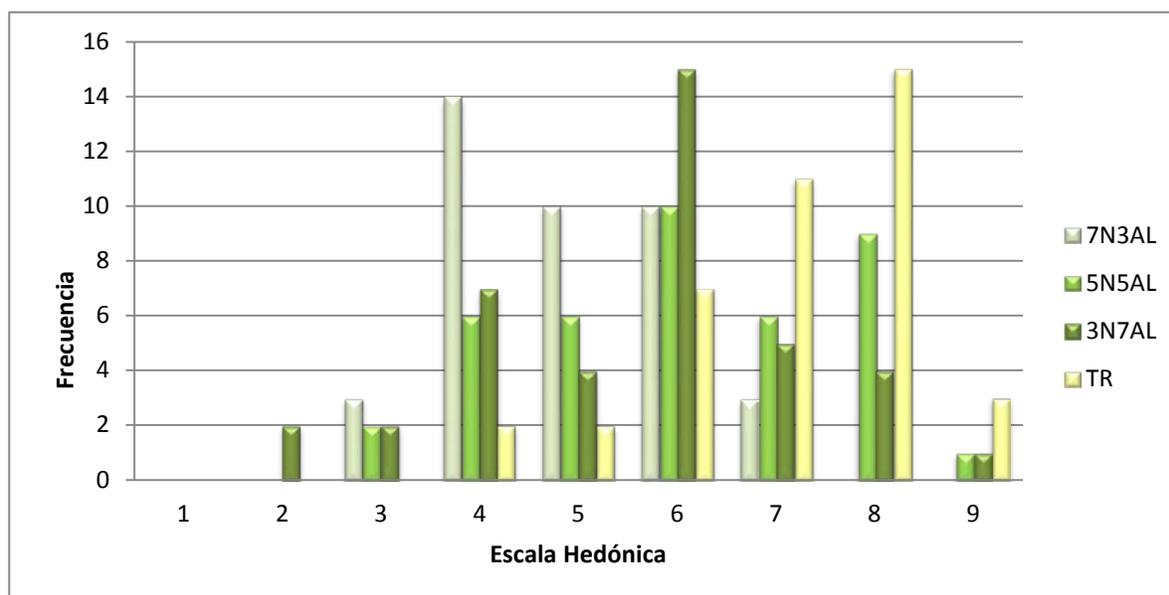


Fig 10. Escala hedónica para los tratamientos de tortilla fortificada con harina de nopal y alga a 3 diferentes concentraciones (1. Me es muy desagradable, 2. Me desagrada mucho, 3. Me desagrada, 4. Me desagrada un poco, 5. Me es indiferente, 6. Me gusta un poco, 7. Me gusta, 8. Me gusta mucho, 9. Me es muy agradable).

Un aspecto importante en la industria de alimentos es la vida de anaquel o vida útil del producto. Esta se define como el periodo que corresponde, bajo circunstancias definidas, a una tolerable disminución de su calidad. Este tipo de estudios permiten establecer los puntos débiles de un producto al someterlo a determinadas condiciones de almacenamiento, información indispensable para la mejora del producto a través de su reformulación o modificación de su empaque. Pueden estar dados por el conjunto de análisis fisicoquímicos, sensoriales o una mezcla de ambos.

Ambos grupos de formulaciones fueron sometidos a un estudio de vida de anaquel acelerada, simulando condiciones de almacenamiento de una tortillería común. Se empaquetaron en bolsas de polietileno en grupos de 15 tortillas a  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ , en humedad ambiente. El estudio estaba contemplado para 7 días de duración pero debido a las condiciones de temperatura y humedad, las muestras resistieron sólo 3 días. Durante este tiempo se evaluó la rolabilidad subjetiva y el porcentaje de humedad. La calidad microbiológica no fue evaluada pero se presume de buena calidad microbiológica, debido a reportes indicando 3 días promedio para tortillas a  $22^{\circ}\text{C}$  (Martínez Flores *et. al.*, 2004).

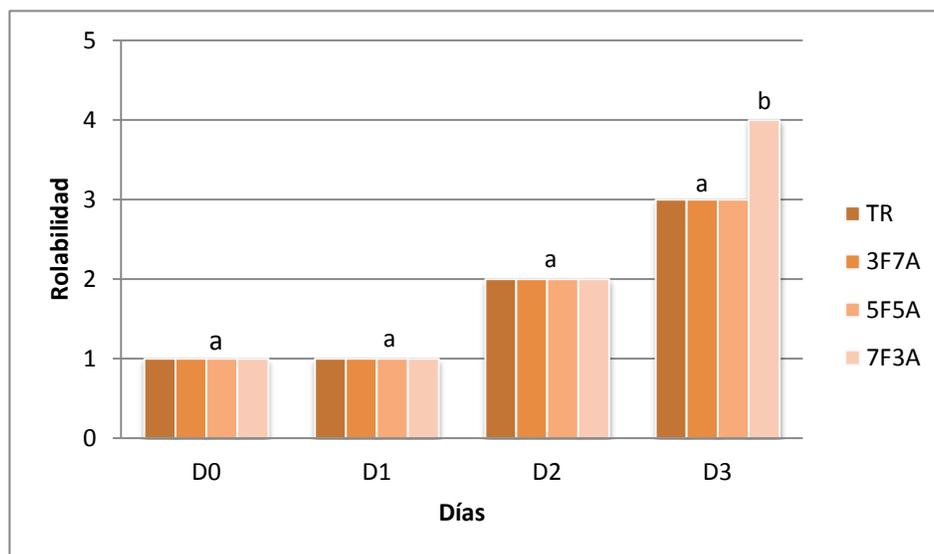
Dentro de las formulaciones con frijol y amaranto, no se observó cambio alguno en la rolabilidad del día 0 a las 24h, mostrando 1 como valor. A partir de las 48h, se presenta un cambio en todas las formulaciones, incluyendo TR. A las 72h, hubo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el valor de rolabilidad, siendo 3 (25 - 50% de rompimiento) tanto en TR como en 3F7A y 5F5A. La fórmula 7F3A presentó mayor rompimiento, con un valor de 4 (>50% de rompimiento).

Respecto a humedad, desde el día 0 se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre las distintas fórmulas. En orden decreciente, 5F5A 41.67%, 7F3A 40.33%, TR 38.46% y 3F7A 33.33%, valores dentro de lo establecido para una tortilla recién hecha (Agama Acevedo *et. al.*, 2004, 2005). Del día 1 al 2, se observó un cambio drástico en el valor de humedad, llegando hasta un 20% para TR y 3F7A. Para 5F5A y 7F3A, los valores fueron de 26.41% y 28.58%, respectivamente. Del día 2 al 3, el valor mayor fue para TR, con 18%, en orden decreciente le siguieron 5F5A, 3F7A y 7F3A.

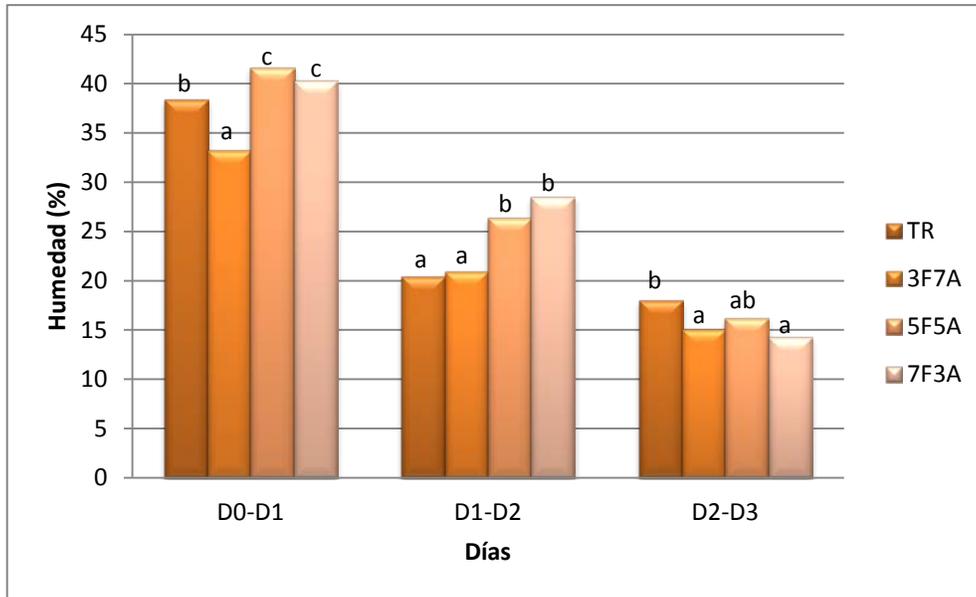
La rolabilidad en las muestras con nopal y alga muestran un comportamiento similar a las fortificadas con frijol y amaranto. En el día 0 y 1 la rolabilidad fue de 1 (sin cambio y rompimiento aparente). En el día 2, hubo presencia de rompimiento en todas las fórmulas, incluyendo TR. Para el día 3, hubo una mayor presencia de rompimiento, con niveles de 3

(25 – 50% de rompimiento) para TR, mientras que para las tortillas fortificadas el valor fue 4 (>50% de rompimiento). Este último cambio representa una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

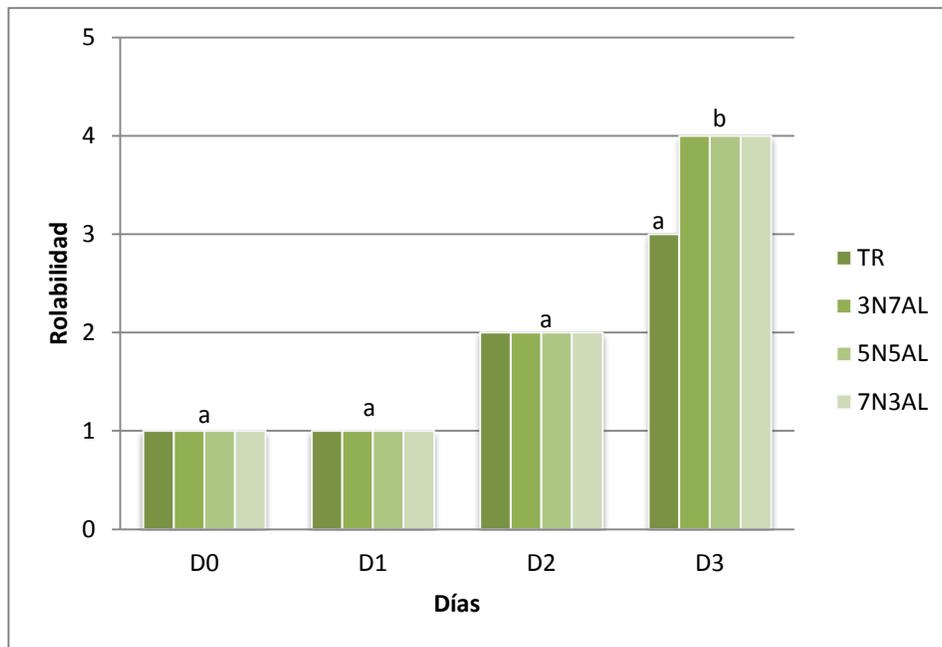
Para las determinaciones de humedad, se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) durante los 3 días de estudio. Del día 0 al 1 el valor mayor fue para la tortilla con mayor porcentaje de alga, 3N7AL, con 41%. Le siguieron de forma descendente TR, 5N5AL y 7N3AL, con 36.66%. Dichos valores dentro de los valores establecidos para tortilla común recién hecha (Agama Acevedo *et. al.*, 2004, 2005). Los valores del día 1 al 2, muestran un comportamiento muy diferente al otro grupo de formulaciones. 3N7AL presenta el mayor porcentaje de humedad, con 34%, siguiendo 5N5AL, 7N3AL y finalmente TR, con 20.43%. Al día 3, la pérdida de agua se acentuó, siendo ahora TR la de mayor cantidad de humedad, con 18%, siguiendo 3N7AL, 5N5AL y finalmente 7N3AL con 14%.



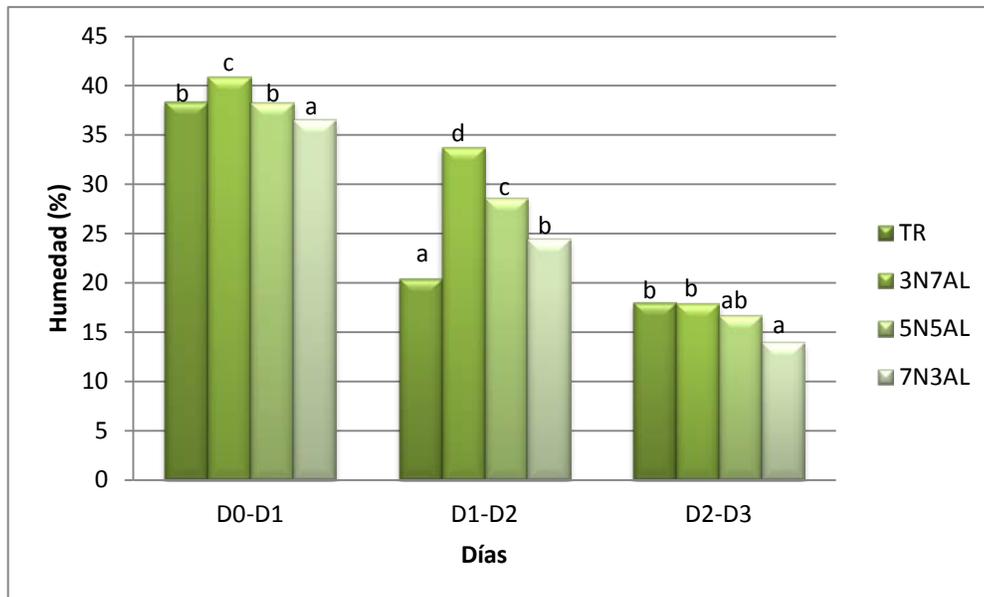
**Fig.11.** Cinética de rolabilidad de tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$  (Promedio de 15 repeticiones). Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).



**Fig 12.** Cinética de humedad de tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$  (Promedio de 5 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )).



**Fig 13.** Cinética de rolabilidad de tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$  (Promedio de 15 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )).



**Fig.14. Cinética de humedad de tortillas fortificadas con harina de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones durante 3 días bajo condiciones de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2$  (Promedio de 5 repeticiones. Valores promedio con diferente letra entre columnas son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ )).**

Las características descritas por los panelistas en el análisis sensorial, así como lo observado en el estudio de vida de anaquel pueden explicarse mediante los resultados sobre la reología y textura anteriormente descritos. Los cambios se entienden por la retrogradación del almidón, el cambio en la relación amilosa – amilopectina y la retención y liberación de agua por la fibra dietética, además de sabores propios de las materias primas del estudio.

En los análisis descritos en el capítulo 1, se mencionaba un ligero pero significativo cambio en el IAA, así como cambios en la fuerza de tensión, distancia de ruptura y fuerza de corte de las formulaciones fortificadas, lo que generaba un cambio en la cantidad de agua absorbida por la masa, a la vez que la tortilla hecha era más suave y fácil de romper, lo que explicaría la presencia de esa sensación seca por fuera pero húmeda por dentro, junto al comentario de “tortilla ‘masuda’ ”.

Se sabe que el almidón gelatinizado tiende a ser termodinámicamente inestable y trata de volver a su conformación original bajo condiciones de almacenamiento, ya sea a temperatura ambiente o a temperaturas de refrigeración, sufriendo lo que se denomina,

retrogradación. Este fenómeno tiene gran influencia sobre las propiedades texturales (físicoquímica y sensorialmente hablando) y la vida de anaquel (Biliaderis, 1991). La presencia de la retrogradación del almidón en tortillas de maíz está bien documentada, debido a que el principal responsable de dicho proceso es el tratamiento térmico al que es sometido durante la nixtamalización y su posterior cocción (Campus Baypoli *et. al.*, 1999). En condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente, se ha observado la pérdida de humedad, ayudando a la retrogradación ya presente *per se* en la tortilla, principalmente de *amilo*sa (Aberle y Burchard, 1997), disminuyendo la disponibilidad del almidón (Agama Acevedo *et. al.*, 2004). Esta última aseveración explicaría porqué al aumentar la cantidad de frijol en las tortillas, los problemas sensoriales aumentan, así como la rolabilidad, fracturando el producto terminado. Sin embargo, esto podría tener un efecto positivo en la salud, al disminuir el índice glicémico del producto resultante. Se ha observado que en tortillas fortificadas con amaranto (Islas Hernández *et. al.*, 2007) y con frijol (Sáyago Ayerdi *et. al.*, 2005), los valores de almidón disponible y el índice glicémico de las tortillas era significativamente inferior a la tortilla regular.

Por otro lado, los hidrocoloides, como los presentes en el alga, al agregarse a la masa tortillera mejoran la textura, eliminan la adhesividad de tortilla empacada, así como mejoran su comportamiento en almacén y aumentan el rendimiento de masa (Serna-Saldívar *et. al.*, 1990). Estos efectos son el resultado de plastificar la región amorfa, ya sea a través de la retención de agua o mediante la inhibición de las interacciones de polímero (Miranda-López 1999). Algunos hidrocoloides tienen la capacidad de desarrollar una red a través de varios tipos de interacciones físicas y químicas que resultan en una estructura viscoelástica (Suhendro 1997). Sin embargo, la adición excesiva de hidrocoloides imparte una textura indeseable, gomosa y dura, en los productos horneados (Suhendro, 1997). Todo esto puede explicar las características descritas por nuestros panelistas, además del comportamiento dentro de la vida de anaquel.

El aumento de la absorción de agua mejora la suavidad de la tortilla y retarda la dureza (Fernández de Castro 1997, Quintero-Fuentes, 1999). Tortillas que contienen hidrocoloides tienen mayores porcentajes de humedad que el control, lo que significa que los hidrocoloides ligan al agua durante el mezclado y retener la humedad durante la cocción (Yeggy, 2000), afectándola textural y sobre todo, sensorialmente. Por ejemplo, la carboximetilcelulosa (CMC) une el agua adicional que podría reducir valores de  $T_g$  pero mejora la textura, requiriendo mayor fuerza para extender, aumentando la distancia cuando se aplica tensión (Yeggy, 2000). En el caso de las tortillas fortificadas con fibra dietética, observamos claramente ese comportamiento en la vida de anaquel, al retener mayor tiempo

el agua pero, al lidiar los hidrocoloides (FS) con el almidón retrógrado por mantener el agua, la textura de éstas se ve perjudicada, afectando la rolabilidad de manera negativa.

Se conoce que al añadir porcentajes de harina de nopal a otras harinas, como trigo y maíz, además de cambiar el color, afecta la viscosidad y reología de la masa y producto terminado, derivando en una disminución del agrado en el consumidor, como en esta investigación. En pruebas con galletas caseras, se incorporó hasta un 25% de harina de nopal y en todas las muestras analizadas, se encontró un cambio de color, así como una sensación mucilaginoso y un dejo herbáceo en el panelista. La galleta de mayor aceptación fue la que contenía el menor porcentaje de inclusión, 15% (Fontanot, 1999). En el caso de panes, en porcentajes 5% de inclusión, los factores texturales y sensoriales no se ven afectados de manera significativa, excepto el color (Ayadi *et. al.*, 2009). Estas características gomosas, con sabor herbáceo y cambio de color se presentan en productos variados, como flanes (Sáenz *et. al.*, 2002), y cremas (Sáenz *et. al.*, 1997; Sáenz *et. al.*, 1999).

Respecto a estas formulaciones y la mención de sabores distintos, la presencia de éstos podría explicarse debido a la presencia del alga. Las especies del género *Ulva*, y en general los productos marinos, presentan una cantidad importante de los aminoácidos arginina, alanina, ácido aspártico y glutámico. Estos dos últimos son los responsables del sabor y resabio del alga o a “producto de mar” (Mabeau *et. al.* 1992), además de la alta concentración de sales, principalmente de calcio, sodio, potasio y magnesio (Taboada *et. al.*, 2009). En estudios sobre la inclusión de harina del alga *ulva*, se ha observado que puede aumentar el rendimiento por kg de producto terminado, debido al aumento en la retención del agua (Chang y Wu, 2008), puede potenciar el sabor del producto cuando este es muy graso, haciéndolo desagradable al consumidor (Mamatha *et. al.*, 2006).

Con estos datos, se observa que los cambios arrojados por los análisis del capítulo 1, se ven reflejados sensorialmente, disminuyendo la aceptación sensorial de ambos grupos de formulaciones fortificadas, así como en su vida de anaquel, afectando la rolabilidad del producto. Sin embargo, cabe recalcar que aunque menor, la preferencia de las tortillas es de un nivel aceptable, principalmente 3F7A y 5N5AL. Otro punto importante es la vida de anaquel, la cual está dentro de lo reportado en literatura bajo las condiciones analizadas.

**CAPÍTULO 3**  
**EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE TORTILLAS FORTIFICADAS**

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Gran parte del objeto de estudio del trabajo fue el desarrollar tanto formulaciones de tortilla fortificadas con proteína de buena calidad, como tortillas fortificadas con fibra dietética para evaluar el efecto de dichas fortificaciones sobre modelos animales en ratas Wistar.

### Evaluación biológica de fortificación con proteína

La evaluación biológica, o *in vivo*, de proteína comprende el medir el rango de eficiencia proteica (PER), que representa el aumento de peso del cuerpo del animal estudiado dividido entre los gramos de proteína consumida, el cual nos da una idea global del uso de dicha proteína consumida. Además del PER, se cuantifica la digestibilidad aparente (DA), el valor biológico (VB), la utilización neta de proteína (NPU), así como el valor del aminoácido esencial limitante corregido por digestibilidad de proteína (PDECAAS). Este último tiende a desplazar al PER, debido a que refiere los aminoácidos necesarios para niños de 2 a 5 años (el grupo más demandante) (FAO/WHO, 1990).

El estudio biológico de las formulaciones con proteína comprendió un bioensayo de 2 generaciones de ratas Wistar, bajo condiciones estándar (12h luz / 12h oscuridad, a temperatura ambiente, alimentación y agua *ad libitum*). Las dietas suministradas (Tabla 32) se basaron en las formulaciones de tortilla regular (TR), tortilla fortificada con 3 diferentes concentraciones de frijol y amaranto (7F3A, 5F5A, 3F7A), y una dieta control de caseína al 10% (CAS) que se suministraron *ad libitum*. En ambas generaciones se adaptó a los individuos a dichas dietas y posteriormente se recolectaron las heces y orina durante 10 días para la determinación de nitrógeno excretado.

Se observan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes dietas (Tabla 32), tanto en proteína, dato esperado debido a la fortificación; así como en los demás parámetros medidos, excepto en fibra insoluble (FI). Los resultados obtenidos en el análisis bromatológico para tortilla regular (TR) están dentro de los datos registrados por diversas fuentes (Figuroa Cárdenas *et. al.*, 2001; Flores Farías *et. al.*, 2002; Amaya Guerra *et. al.*, 2004), excepto el de proteína, siendo 1% menor, así como el de FS y FI, ambas no cuantificadas en dichos reportes.

**Tabla 30. Composición química de las dietas a base de maíz nixtamalizado fortificadas con frijol y amaranto utilizadas en un bioensayo de 2 generaciones<sup>1,2</sup>.**

	TR	7F3A	5F5A	3F7A	CAS
<b>Proteína (%)</b>	8.59 <sup>a</sup>	10.02 <sup>c</sup>	10.59 <sup>c</sup>	9.17 <sup>b</sup>	11.51 <sup>d</sup>
<b>Extracto etéreo (%)</b>	1.10 <sup>a</sup>	1.45 <sup>b</sup>	1.57 <sup>b</sup>	1.70 <sup>b</sup>	5.02 <sup>c</sup>
<b>FD<sup>3</sup> total (%)</b>	10.96 <sup>b</sup>	11.30 <sup>c</sup>	11.29 <sup>c</sup>	11.28 <sup>c</sup>	4.98 <sup>a</sup>
<b>FI<sup>4</sup> (%)</b>	10.75	10.86	10.89	10.92	---
<b>FS<sup>5</sup> (%)</b>	0.20 <sup>a</sup>	0.44 <sup>b</sup>	0.40 <sup>b</sup>	0.36 <sup>b</sup>	---
<b>Cenizas (%)</b>	0.92 <sup>a</sup>	1.14 <sup>b</sup>	1.15 <sup>b</sup>	1.16 <sup>b</sup>	4.06 <sup>c</sup>
<b>ELN<sup>6</sup> (%)</b>	78.33 <sup>b</sup>	74.81 <sup>a</sup>	74.69 <sup>a</sup>	74.58 <sup>a</sup>	74.43 <sup>a</sup>
<b>ED<sup>7</sup> (kcal)</b>	357.58 <sup>b</sup>	352.37 <sup>ab</sup>	355.25 <sup>b</sup>	350.28 <sup>a</sup>	389.08 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma línea son significativamente diferentes (p<0.05).

<sup>3</sup>FD: fibra dietética.

<sup>4</sup>FI: fibra insoluble.

<sup>5</sup>FS: fibra soluble.

<sup>6</sup>ELN: extracto libre de nitrógeno.

<sup>7</sup>ED: energía digestible = (%ELN \* 4kcal/g) + (% proteína \* 4kcal/g) + (%extracto etéreo \* 9kcal/g).

TR: tortilla de harina comercial, 7F3A: tortilla con 7% de harina de frijol y 3% de harina de amaranto, 5F5A: tortilla con 5% de harina de frijol y 5% de harina de amaranto, 3F7A: tortilla con 3% de frijol y 7% de amaranto. CAS: dieta con 10% de caseína.

**Tabla 31. Cantidades de lisina (Lys) y triptófano (Trp) de dietas experimentales a base de harina de maíz nixtamalizado fortificada con harina de amaranto y frijol en 3 diferentes proporciones.**

Aminoácido/ Harina	TR	7F3A	5F5A	3F7A	CAS	FAO/WHO std*
<b>Proteína total</b>	8.70 <sup>a</sup>	10.02 <sup>c</sup>	10.59 <sup>c</sup>	9.16 <sup>b</sup>	11.51 <sup>d</sup>	---
<b>Lisina</b>	2.99 <sup>a</sup>	3.89 <sup>b</sup>	3.49 <sup>b</sup>	3.85 <sup>b</sup>	8.42 <sup>c</sup>	5.8
<b>Triptófano</b>	0.80 <sup>a</sup>	0.90 <sup>b</sup>	0.85 <sup>b</sup>	0.98 <sup>b</sup>	1.48 <sup>c</sup>	1.1
<b>VAAE (%)**</b>	51.55	67.07	60.17	66.38	100	100

Valores por mg/100g de proteína.

\*Requerimiento para un niño de 2 años FAO/WHO (1984). Datos expresados en g AA/100g proteína

\*\*Valor de aminoácido esencial= AA esencial limitante/requerimiento FAO/WHO

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma línea son significativamente diferentes (p<0.05).

Hablando directamente sobre el aporte de proteína, se observó que entre las dietas hay un aumento significativo (p<0.05), tanto en proteína total (entre 7 y 23%) como en el aporte de lisina (entre un 34 y 50%) y triptófano (entre 21 y 40%) en las dietas experimentales,

respecto a TR (Tabla 33). La dieta 3F7A presenta el menor aporte de proteína (7%) pero éste valió para favorecer el mayor aporte de lisina (50%). Al realizar el análisis del valor de aminoácido limitante (VAAE) para lisina, vemos un aumento superior del 10% en todas las formulaciones fortificadas, hasta llegar a un 15% en el caso de dicha dieta.

Este aporte de proteína brindado por la fortificación es de alto valor biológico. Se tiene documentado que la semilla de amaranto, cuando ha sido procesada (“puffeado”, rostizado o cocción húmeda), presenta un rango de eficiencia proteica (PER) equiparable a la caseína, con una digestibilidad verdadera (DV) de 86 a 89% (Paredes López *et. al.*, 1994; Morales *et. al.*, 1988). A su vez, la proteína del grano de frijol, aunque presenta valores pobres o medios de PER (0.9 a 1.7), según variedad y proceso de cocción, presenta un valor biológico (VB) y DV entre 77 a 92%, con un contenido de lisina alrededor de 8.7g/100g de proteína de frijol (Reyes Moreno y Paredes López, 1993), el cual, comparando con los patrones de referencia de la FAO/WHO/ONU, satisface en más de 500% de las necesidades de un adulto y 150% de un infante (FAO/WHO/ONU, 1985; Blanco y Bressani, 1991; Tezoto y Sgarbieri, 1990).

Los valores que se reportan en esta investigación son comparables a los reportados por otras investigaciones en donde se incorporó frijol blanco nixtamalizado en 5%, 10% y 15% de fortificación, con valores de lisina entre 3.7 – 4.3 g/ 100g de proteína y 4.3 a 5.7 g triptófano/100g de proteína (Cuevas Martínez *et. al.*, 2010). Valores similares también fueron reportados en tortilla fortificada con mezclas de lisina + triptófano y aislado proteico de lupino (*Phaseolus lunatus*) (Lecuona Villanueva *et. al.*, 2012). A su vez, los resultados de 7F3A, 5F5A y 3F7A muestran similitud de valores proteicos y de aminoácidos con estudios realizados con harina de soya desgrasada (Stylianopoulos *et. al.*, 2002) y ésta al 6% + maíz de alta calidad proteica (QPM) (Amaya Guerra *et. al.*, 2004).

## Estudio de crecimiento

En ambas generaciones, se presentó el mismo comportamiento de desarrollo, donde las ratas alimentadas con la dieta control de caseína (CAS) muestra la tasa de conversión proteica más alta, presentando PER de 2.68 en la 1° generación y 2.22, en la 2° generación (Tabla 34). Dentro de las dietas experimentales, la dieta 3F7A (3% frijol, 7% amaranto) presentó los mejores resultados en ambas generaciones, 2.18 g de peso ganado / g de proteína consumida. Le siguieron 7F3A y 5F5A con resultados sin diferencia significativa ( $p>0.05$ ) entre ellos. La primera mostró 1.90g y 1.42g de peso ganado / g de proteína consumida, mientras que 5F5A arrojó 1.91g y 1.57g de peso ganado / g de proteína consumida. La menor eficiencia proteica la mostró TR, con valores de 1.10g de peso ganado / g de proteína consumida para la 1° generación y 0.87g de peso ganado / g de proteína consumida en la 2° generación. Los resultados de las ratas alimentadas con dieta CAS concuerdan con investigaciones realizadas por otros grupos de investigación (Serna Saldivar *et. al.*, 1987, Serna Saldivar *et. al.*, 1988a, 1988b, Sproule *et. al.*, 1988, Stylianopoulos *et. al.*, 2002).

**Tabla 32.- Comparación entre el crecimiento de ratas de primera y segunda generación alimentadas con dietas basadas en tortillas regulares y fortificadas con harina de frijol y amaranto.**<sup>1,2</sup>

Dieta	Generación	Wi <sup>3</sup> (g)	Wf <sup>3</sup> (g)	$\Delta w$ <sup>3</sup> (g)	CA <sup>4</sup> (g)	CP <sup>5</sup> (g)	PER <sup>6</sup>
CAS	1° generación <sup>1+</sup>	92.50 <sup>b</sup>	122.00 <sup>b</sup>	29.50 <sup>c</sup>	110.00 <sup>b</sup>	11.00 <sup>b</sup>	2.68 <sup>c</sup>
	2° generación <sup>1</sup>	61.50 <sup>a</sup>	84.50 <sup>a</sup>	23.00 <sup>bc</sup>	77.33 <sup>a</sup>	7.73 <sup>a</sup>	2.22 <sup>c</sup>
TR	1° generación <sup>1+</sup>	87.00 <sup>b</sup>	101.50 <sup>b</sup>	14.50 <sup>b</sup>	153.00 <sup>b</sup>	13.14 <sup>b</sup>	1.10 <sup>a</sup>
	2° generación <sup>1</sup>	60.00 <sup>a</sup>	66.67 <sup>a</sup>	6.67 <sup>a</sup>	89.00 <sup>a</sup>	7.65 <sup>a</sup>	0.87 <sup>a</sup>
7F3A	1° generación <sup>1+</sup>	96.40 <sup>b</sup>	130.80 <sup>b</sup>	34.40 <sup>c</sup>	180.30 <sup>b</sup>	18.07 <sup>b</sup>	1.90 <sup>b</sup>
	2° generación <sup>1</sup>	57.50 <sup>a</sup>	68.17 <sup>a</sup>	10.67 <sup>b</sup>	74.83 <sup>a</sup>	7.50 <sup>a</sup>	1.42 <sup>b</sup>
5F5A	1° generación <sup>1+</sup>	95.60 <sup>b</sup>	130.80 <sup>b</sup>	35.20 <sup>c</sup>	173.80 <sup>b</sup>	18.41 <sup>b</sup>	1.91 <sup>b</sup>
	2° generación <sup>1</sup>	61.50 <sup>a</sup>	75.67 <sup>a</sup>	14.17 <sup>b</sup>	85.16 <sup>a</sup>	9.02 <sup>a</sup>	1.57 <sup>b</sup>
3F7A	1° generación <sup>1+</sup>	87.75 <sup>b</sup>	129.75 <sup>b</sup>	42.00 <sup>c</sup>	210.33 <sup>b</sup>	19.27 <sup>b</sup>	2.18 <sup>bc</sup>
	2° generación <sup>1</sup>	64.00 <sup>a</sup>	80.83 <sup>a</sup>	16.83 <sup>b</sup>	84.17 <sup>a</sup>	7.71 <sup>a</sup>	2.18 <sup>bc</sup>

<sup>1+</sup> n = 6 individuos de 5 semanas de edad.

<sup>1</sup> n = 6 individuos de 28 días de edad.

<sup>2</sup> Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p<0.05$ ).

<sup>3</sup> Wi = peso inicial de la rata, Wf = peso final de la rata,  $\Delta W = Wf - Wi$ .

<sup>4</sup> CA = consumo de alimento (10 días).

<sup>5</sup> CP = consumo de proteína (10 días).

<sup>6</sup> PER = rango de eficiencia proteica.

Comparando los datos de PER para ambas generaciones, los pesos iniciales presentes en la 2° generación son significativamente menores a los presentados en la 1° generación. Estos

datos se esperaban debido a que durante la gestación, lactancia y el desarrollo de las ratas en la 2° generación fueron alimentadas con dieta a base de tortilla, sin fortificación proteica (TR) y con ella (7F3A, 5F5A, 3F7A). Sin embargo, este hecho no se esperaba en las ratas alimentadas con CAS, por lo que se supone que la variación de 1 semana de edad entre ambas generaciones estudiadas, además de algún hecho ambiental, afectaron los datos.

Aun así, las dietas fortificadas tuvieron una menor cantidad de proteína respecto a CAS pero éstas incrementaron el peso de las ratas Wistar de manera significativa. Este punto es debido a que es conocido que a bajos suministros de proteína existe una mayor retención de nitrógeno, además del tipo de fortificación, aunque bajo, mantuvo un abastecimiento balanceado de aminoácidos (Rosado *et. al.*, 1992; Chávez y Muñoz de Chávez, 2003).

En la eficiencia proteica se observa que entre la misma dieta en diferentes generaciones no se presenta un cambio significativo ( $p < 0.05$ ), aunque los porcentajes de eficiencia proteica disminuyen entre ellas. Por ejemplo entre las generaciones alimentadas con TR se presentó 21% de disminución de este valor, así como para 7F3A, la cual presentó hasta un 25% disminución. El valor de disminución para 5F5A fue de 18%. En el caso de 3F7A no se presentó este fenómeno.

Este último dato se importante recalcarlo, porque significa que 3F7A incrementa el peso de una manera comparable al control CAS, aún con la presencia de la harina de frijol, la cual no es recomendada en este tipo de estudios debido a la presencia de antinutrientes, como ácido fítico, polifenoles y lectinas. El hecho de obtener estos resultados lo han encontrado diversos reportes, los cuales sustentan que la digestibilidad de proteína de frijol, en su variedad pinto y negro, es muy similar a la del texturizado de soya (Navarrete y Bressani, 1981; Sarwar y Peace, 1986; Sarwar, 1997). Dentro de estos estudios, se analizaron diversas proporciones de maíz/frijol en humanos, con el fin de obtener una relación que ayudara a la digestibilidad de ambas proteínas, las cuales, son complementarias. Se llegó a una proporción de 87:13 maíz/frijol, con valores de DV de 87% (Navarrete y Bressani, 1981).

A su vez, estudios diversos, tanto en animales como humanos, sustentan el apoyo brindado por la proteína de amaranto, principalmente como apoyo a la digestibilidad de proteína de maíz. Se ha observado que en ratas Sprague – Dawley adultas, a las cuales se les proporcionó una dieta de 9.1% de proteína de amaranto, se obtuvieron valores de PER sin diferencia significativa entre ésta y la dieta control de caseína (Morales *et. al.*, 1988). Al

mismo tiempo, en dicho reporte se sugiere que una proporción no mayor de 20% (idónea 12.7%) de amaranto en la dieta satisface y ayuda a la utilización neta de la proteína de maíz (Morales *et. al.*, 1988).

Es decir, una fortificación de 3% de harina de frijol y 7% de amaranto podría ser comparable con el costo y comportamiento reológico del 8% de harina de soya, la cual se ha estudiado ampliamente y ayuda al desempeño textural y provee un incremento significativo de proteína (Serna-Saldivar, *et. al.*, 1988). En el caso de las materias primas aquí estudiadas, frijol y amaranto, ambas proporcionan el mismo efecto de la harina de soya, además de ser productos del campo mexicano, ayudando a promover el desarrollo y explotación razonable de dichos cultivos.

Regresando a la disminución porcentual de PER entre generaciones, hay que recordar que las dietas experimentales muestran diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) tanto en la cantidad de proteína y concentraciones de lisina y triptófano, como en la cantidad de fibra dietética total y soluble (Tabla 32). Estos últimos datos nos pueden indicar la disminución de los valores de las tablas 34 y 35. Se conoce ampliamente la presencia de antinutrientes (lectinas, taninos, polifenoles, inhibidores de tripsina, principalmente) y del contenido alto de fibra dietética en el frijol, los cuales afectan la calidad de la proteína y su digestibilidad en el tracto digestivo.

Dentro de los antinutrientes, se conoce que muchos de ellos son termolábiles, además que en los últimos años, se ha observado el efecto positivo de estos compuestos, principalmente de los polifenoles. Los polifenoles de frijol se encuentran principalmente en la testa y varían en concentración según el color de la misma y por cuestiones de cultivo. Hay una amplia diversidad de estos, ya que se encuentran tanto flavonoides, antocianidinas, proantocianidinas, isoflavonas y ácidos fenólicos (Aparicio Fernández *et. al.*, 2006; Aparicio Fernández *et. al.*, 2005; Beninger *et. al.*, 1999; Beninger y Hosfield, 2003; Choung *et. al.*, 2003; Diaz Batalla, *et. al.* 2006; Macz Pop *et. al.*, 2006; Romani *et. al.*, 2004; Takeoka *et. al.*, 1997) principalmente derivados del ácido hidroxicinámico, así como flavonoides. Entre los que se reportan con mayor frecuencia están delphinidina, petunidina, malvidina, kampferol en sus diferentes formas glicosidadas, quercetina, tanto glucosidada como malonada, pelargonidina (Lin *et. al.*, 2008). Todos estos compuestos presentan actividad antioxidante.

De mismo modo, en los últimos años se ha estudiado ampliamente el efecto del almidón resistente presente en el frijol. Este se encuentra en cantidades alrededor del 6g/100g de harina de frijol, pero puede variar de manera importante según el proceso de cocción y el tiempo y método de almacenamiento (Grajales García *et. al.*, 2012). La importancia de este radica en disminuir el índice glicémico del producto terminado, lo que conlleva efectos positivos a la salud.

A su vez, este tipo de compuestos pueden encontrarse en el amaranto, conllevando los mismos efectos al organismo. Se ha estudiado el efecto de extruidos de amaranto en liebres hipercolesterolémicas, observando que la dieta suministrada afecta positivamente en la reducción de colesterol en forma de LDL y colesterol total (Plat y Areas, 2002). Sobre la presencia de antioxidantes, el amaranto es rico en escualeno, rutina, isoquercetina y nicotiflorina con actividad antidiabética, antiinflamatoria y anticarcinogénica (Suryavanshi *et. al.*, 2007). Por lo tanto, la presencia de ambas harinas, además de ayudar como una fortificación proteica, podría beneficiar a la salud, disminuyendo niveles de colesterol, triglicéridos y glucosa en sangre.

**Tabla 33. Efectos de la fortificación y enriquecimiento de tortillas en valores de digestibilidad y retención de nitrógeno de las ratas de la 1<sup>o</sup> generación.**

Dieta	PER	DAP (%)	VB (%)	UNP (%)	PDCAAS (%)
CAS	2.68 <sup>c</sup>	81.74 <sup>b</sup>	73.66 <sup>c</sup>	71.73 <sup>c</sup>	95.38 <sup>d</sup>
TR	1.10 <sup>a</sup>	77.25 <sup>a</sup>	61.69 <sup>a</sup>	55.39 <sup>a</sup>	49.17 <sup>a</sup>
7F3A	1.90 <sup>b</sup>	87.08 <sup>b</sup>	72.53 <sup>bc</sup>	71.86 <sup>c</sup>	63.97 <sup>c</sup>
5F5A	1.91 <sup>b</sup>	85.84 <sup>b</sup>	70.36 <sup>b</sup>	68.98 <sup>b</sup>	57.39 <sup>b</sup>
3F7A	2.18 <sup>bc</sup>	85.37 <sup>b</sup>	73.41 <sup>c</sup>	67.79 <sup>b</sup>	63.31 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> n = 6 individuos de 5 semanas de edad.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

<sup>3</sup>PER = rango de eficiencia proteica.

DAP = digestibilidad aparente de proteína.

VB = valor biológico.

UNP = utilización neta de proteína.

PDCAAS = valor del aminoácidos limitante (LYS) corregidos por digestibilidad de proteína.

Ahondando en el estudio sobre digestibilidad de proteína, se observó una digestibilidad aparente de proteína (DAP) sin diferencia significativa (p>0.05) entre las dietas fortificadas con frijol y amaranto y CAS, presentando valores entre 82% (CAS) hasta 87% (7F3A). TR presentó la menor DAP, con un valor de 77.25%. En el caso del valor biológico (VB) obtenido, 7F3A y 3F7A (VB = 72.53% y 73.41%, respectivamente) presentan un valor sin diferencia aparente con el control CAS (73.66%). 5F5A (70.36%) presentó diferencias significativas respecto 3F7A pero no con 7F3A. Se siguió presentando TR como valor menor (61.69%). Sobre utilización neta de proteína (UNP), se observa un mayor sesgo en

los datos, debido a que 7F3A (71.86%) es la única dieta que presenta UNP similar a CAS (71.73%). 5F5A (68.98%) y 3F7A (67.79%) presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) respecto a éstas y TR, la cual siguió la tendencia anterior, presentando el menor porcentaje (55.39%).

Al momento de hacer la relación de aminoácido limitante corregido por la digestibilidad de proteína (PDCAAS), se observaron valores dentro de los reportados en literatura. TR presenta el valor menor (49.17%), resultado esperado, debido al equilibrio amimioacídico presentado en el VAAE calculado. Las formulaciones fortificadas mostraron el siguiente comportamiento: 7F3A (64%), 5F5A (57.4%), 3F7A (63.3%). La dieta a base de caseína CAS presentó el valor mayor de PDCAAS, 95.4%.

Los valores aquí encontrados concuerdan con estudios realizados con tortillas fortificadas con soya y/o realizadas con maíz QPM, además de investigaciones en dónde se analizó la relación maíz/amaranto y maíz/frijol. Sobre las primeras, en un estudio con el objetivo de observar los efectos a 2 generaciones de la fortificación con harina de soya desgrasada con respecto a masa fresca de maíz y tortilla enriquecida con vitaminas y minerales, se observó que la dieta fortificada con soya mostró un mejor desempeño sobre el desarrollo y crecimiento de las ratas Wistar, presentando un PER de 2.05 y 1.73, para la 1ª y 2ª generación, respectivamente, además de mostrar un aporte de 75.1% de VAAE para dicha dieta (Stylianopoulos *et. al.*, 2002).

Otro autor señala que el uso de maíz de alta calidad proteica (QPM), solo o fortificado con 3% soya desgrasada, así como la fortificación de tortilla regular con 6% de soya, es buena opción para la fortificación proteica de la tortilla de maíz, debido a los valores de VB, UNP y PDCASS resultantes (Amaya Guerra *et. al.*, 2004). En dicha investigación, la tortilla regular + 6% de soya mostró valores de 70% VB, 58% UNP y 67% PDCASS; la tortilla QPM + 3% soya con 70% VB, 59% UNP y 72% PDCASS; tortilla QPM con 64% VB, 56% UNP y 63% PDCASS. Al mismo tiempo, los valores menores se presentaron en la tortilla regular, con valores de 56% de VB, 48% UNP y 50% PDCASS.

Ambos estudios concuerdan en que la adición de soya, ya sea como harina o harina desgrasada, es una buena opción para la fortificación proteica. En el caso de esta investigación, se observa que las dietas fortificadas con frijol y amaranto presentan valores cercanos a los presentados por Stylianopoulos *et. al.*, 2002, sobre datos de PER para ambas generaciones, así como mejorándolos, para la dieta 3F7A; así como con Amaya Guerra *et.*

*al.*, 2004 para VB y UNP, siendo la dieta de tortilla regular + 6% de soya la más cercana a los valores aquí reportados. La diferencia entre los valores de PDCASS se justifica con los valores de VAEE mostrados en la tabla 20, que van de 61% a 67%.

Por lo tanto, se puede aseverar que el aporte de proteína brindado por las dietas fortificadas con frijol y amaranto es equiparable a dietas con soya a 3% con maíz QPM y 6% con maíz regular, debido a su complementariedad. Este hecho se corrobora con información brindada por estudios con frijol y amaranto.

Sobre amaranto, se ha observado en ratas Sprague – Dawley alimentadas con dietas basadas en amaranto “puffeado” presenta una DAP de 79%, con valores de N absorbido de 84.6% y N retenido de 66%. A su vez, proporciones de 80/20 de maíz/amaranto proporcionan 70.4% de N absorbido, mostrando una diferencia de 20% respecto a dietas de maíz 100% y aportando la misma energía digestible que esta (Morales *et. al.*, 1988). Al mismo tiempo, se especifica que por cuestiones económicas y nutricionales, una proporción de 12.7% de amaranto en la dieta a base de maíz sería lo idóneo. En el caso del frijol, cuando es cocido presenta un PER de 0.87, el cual no es aceptable pero es mejor si la comparamos con la proteína de maíz aislada (PER <0.5). Además, presenta una DV entre 80 – 87% vs 63% de la proteína de maíz (Sarwar, 1997). A su vez, la proteína de frijol presenta un PDCASS 51%, con una digestibilidad de 78% para lisina y 58% para triptófano (Sarwar y Peace, 1986.).

## Estudio de desempeño reproductivo

Parte del objetivo de realizar un bioensayo de 2 generaciones es precisamente el observar la posibilidad de un efecto a largo plazo o que pueda ser transcurrido a través de generaciones. En numerosas investigaciones se ha cuantificado y calificado los diversos cambios provocados por la malnutrición proteica a través de generaciones, tanto en ratas de laboratorio (Turner *et. al.*, 1973; Petean Trindade *et. al.*, 1984; Jansen *et. al.*, 1986; Stylianopoulos, 2002; Amaya Guerra *et. al.*, 2004; Amaya Guerra y Alanís Guzmán, 2009), como en humanos (Chávez y Muñoz de Chávez, 2003).

Dentro de estos cambios se conoce la relación deficiencia proteica y bajos niveles de reproducción, y disminución en la cantidad y calidad de la leche materna (Alexander *et. al.*, 1988; Friggers *et. al.*, 1993, Rasmussen, 1988, Sakanashi *et. al.*, 1987). La desnutrición durante la gestación y el bajo peso al nacer son riesgos importantes para la predisposición a problemas metabólicos durante el crecimiento del individuo (Barker *et. al.*, 1993; Prasard, 1991). Estudios en ratas han demostrado que hembras alimentadas con solo el 75% de la energía requerida antes y durante la gestación, presentaron efectos negativos de malnutrición pero tuvieron una lactación normal; sin embargo, otras alimentadas al 50% de los requerimientos energéticos tuvieron problemas serios durante la gestación y lactación (Young y Rasmussen, 1985).

Dentro de los ensayos *in vivo*, se observó un 100% de preñez en todas las camadas (Tabla 36). De las crías nacidas, hubo una mayor cantidad para las ratas alimentadas con CAS, donde se obtuvo 9.5 crías en promedio. Las dietas fortificadas con frijol y amaranto presentaron 8 crías por camada. Por otro lado, TR presentó la menor cantidad, con sólo 6 crías por camada, valor promedio.

De éstas, se midió el peso al nacer y a los 21 días, fecha de destete de la madre. En ambos pesajes, se observó la misma tendencia de peso, siendo las crías de madres alimentadas con CAS las de mayor peso al nacer (5.24g) y al destete (58.1g), aumentando 10 veces su peso en ese tiempo. Las crías de madres alimentadas con dietas fortificadas con frijol y amaranto presentaron el mismo comportamiento, con valores sin diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre sí, con un peso al nacer entre 4.81 y 4.90g, así como un peso promedio al destete de 50g, aumentando poco más de 10 veces su peso. En el caso de las crías de madres alimentadas con TR también aumentaron 10 veces su peso desde el nacimiento hasta los 21 días de edad pero con valores inferiores en ambos parámetros (4.50g a 48g, promedio)

respecto a las demás dietas. En el caso de la sobrevivencia, tanto las crías de CAS como las de madres alimentadas con 7F3A, 5F5A y 3F7A presentaron un 100% de sobrevivencia a los 21 días de edad; no así para TR, donde sólo sobrevivió un 80% de las crías.

**Tabla 34. Toma de peso al nacer, a los 21 días de nacida y porcentaje de sobrevivencia de crías de la 1<sup>o</sup> generación.**

Dietas	# crías x camada	Peso al nacer (g)	Peso a los 21 días (g)	Sobrevivencia (%)
CAS	9.5 <sup>c</sup>	5.24 <sup>b</sup>	58.10 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>
TR	6 <sup>a</sup>	4.50 <sup>a</sup>	48.00 <sup>a</sup>	80 <sup>a</sup>
7F3A	8 <sup>b</sup>	4.82 <sup>a</sup>	50.12 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
5F5A	8 <sup>b</sup>	4.90 <sup>a</sup>	50.11 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>
3F7A	8 <sup>b</sup>	4.81 <sup>a</sup>	50.29 <sup>b</sup>	100 <sup>b</sup>

Resultados de 2 camadas por tratamiento.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05).

Estos datos coinciden con resultados arrojados por otras investigaciones, en dónde se utilizaron como fuente de fortificación proteica harina de soya desgrasada (Stylianopoulos, 2002), mezclas de maíz QPM y 6% de harina desgrasada de soya (Amaya Guerra *et. al.*, 2004), en donde ambos obtuvieron un 100% de preñez y sobrevivencia de la camada de madres alimentadas con una dieta a base de caseína, a su vez que las dietas fortificadas presentaron valores cercanos y al mismo tiempo, superiores a tortilla regular y a tortilla de masa fresca, las cuales presentaron niveles inferiores al 60% de preñez y sobrevivencia de camadas.

Este último dato difiere de lo encontrado en esta investigación, donde se obtuvo un 80% de sobrevivencia. Las posibles razones de esto son la fortificación y el enriquecimiento con vitaminas y minerales ya presente en TR. Se sabe que la presencia adecuada de micronutrientes, principalmente hierro, calcio y ácido fólico (presentes en la harina comercial) están asociados con un adecuado desempeño reproductivo (Alexander *et. al.*, 1988).

Durante el transcurso del bioensayo de 2 generaciones no se presentó pérdida de pelo o dermatitis en las ratas con dietas experimentales, aún durante la gestación y lactancia de las madres procreadoras de la 2° generación. Esto nos indica que la fortificación propia de la harina usada (TR) con niacina, dada por la industria, es capaz de evitar problemas de pelagra y dermatitis, asociados directamente a la deficiencia de niacina (Neldner, 1988). Este hecho también se debió al aporte de proteína adecuado y una mayor cantidad de triptófano dado por dicha fortificación (Tabla 20), ya que este aminoácido es bioconvertido a niacina (Koepe, 1955).

A su vez, se observó el comportamiento durante el transcurso del desarrollo de las camadas. Las crías de CAS y dietas fortificadas (7F3A, 5F5A y 3F7A) presentaron en general buen ánimo (apetito, interacción social, interacción con la madre, curiosidad y juego) en mayor medida que los de TR, las cuales no se mostraron tan activas y sociales entre sí; además de tardar entre 1 – 2 días más en crecer el vello corporal. También se observó que las madres de TR llegaban a consumir sus propios desechos, lo que representa falta de nutrientes de la dieta.

Estos datos sugieren una posible afectación de las habilidades cognitivas de las ratas de la 2° generación. En investigaciones previas, se ha observado y comprobado que la malnutrición proteica genera efectos negativos en el desarrollo y plasticidad cerebral, debido a la falta de cantidades adecuadas de aminoácidos esenciales, fundamentales en la síntesis de DNA (Stylianopoulos *et. al.*, 2002; Amaya Guerra *et. al.*, 2004; Amaya Guerra y Alanís Guzmán, 2009), así como para la función nerviosa, afectando la actitud y el coeficiente intelectual, además del evidente retraso en el desarrollo, afectando la talla al nacer y durante el crecimiento (Alexander *et. al.*, 1988; Friggers *et. al.*, 1993; Jansen *et. al.*, 1986; Rasmussen, 1988; Sakanashi *et. al.*, 1987).

Con esta información, se puede decir que las formulaciones de tortilla fortificada harina de frijol y amaranto son altamente recomendables debido a una mayor cantidad de proteína de alto valor biológico, la cual suele encontrarse deficientes en la tortilla de maíz comercial; ayudando al crecimiento muscular, así como al desempeño reproductivo en madres lactantes y crías en desarrollo.

## Evaluación biológica de la fortificación con fibra dietética

El estudio *in vivo* realizado para la evaluación del efecto de la fortificación con fibra dietética sobre las ratas Wistar se desarrolló con individuos en edad reproductiva, entre 2 ½ a 3 meses de edad, bajo condiciones estándar (jaulas individuales, 25°C ± 2, 12h luz / 12h oscuridad, alimentación y agua *ad libitum*). Se adaptó a las ratas Wistar a las dietas experimentales (Tabla 37) y se tomaron muestras de sangre durante 21 días (día 0, 10 y 21).

**Tabla 35. Composición química de las dietas utilizadas en el bioensayo con ratas adultas <sup>1,2</sup>.**

	TR	7N3AL	5N5AL	3N7AL	CAS
<b>Proteína (%)</b>	8.59 <sup>a</sup>	9.45 <sup>b</sup>	10.59 <sup>c</sup>	11.74 <sup>d</sup>	11.51 <sup>d</sup>
<b>Extracto etéreo (%)</b>	1.10 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>	1.18 <sup>a</sup>	1.22 <sup>a</sup>	5.02 <sup>b</sup>
<b>FD total (%)</b>	10.96 <sup>a</sup>	14.26 <sup>b</sup>	14.27 <sup>b</sup>	14.29 <sup>b</sup>	4.98 <sup>a</sup>
<b>FI (%)</b>	10.75 <sup>a</sup>	12.75 <sup>b</sup>	12.49 <sup>b</sup>	12.23 <sup>b</sup>	---
<b>FS (%)</b>	0.20 <sup>a</sup>	1.51 <sup>b</sup>	1.78 <sup>b</sup>	2.06 <sup>c</sup>	---
<b>Cenizas (%)</b>	0.92 <sup>a</sup>	2.37 <sup>b</sup>	2.46 <sup>b</sup>	2.54 <sup>b</sup>	4.06 <sup>c</sup>
<b>ELN (%)</b>	78.33 <sup>b</sup>	67.96 <sup>a</sup>	67.81 <sup>a</sup>	67.66 <sup>a</sup>	74.43 <sup>a</sup>
<b>ED (kcal)</b>	357.58 <sup>b</sup>	319.99 <sup>a</sup>	324.22 <sup>a</sup>	328.58 <sup>a</sup>	389.08 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Promedio de tres repeticiones.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma línea son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>3</sup>FD: fibra dietética.

<sup>4</sup>FI: fibra insoluble.

<sup>5</sup>FS: fibra soluble.

<sup>6</sup>ELN: extracto libre de nitrógeno.

<sup>7</sup>ED: energía digestible = (%ELN \* 4kcal/g) + (%proteína \* 4kcal/g) + (%extracto etéreo \* 9kcal/g).

TR: tortilla de harina comercial, 7N3AL: tortilla con 7% de harina de nopal y 3% de harina de alga, 5N5AL: tortilla con 5% de harina de nopal y 5% de harina de alga, 3N7AL: tortilla con 3% de nopal y 7% de alga. CAS: dieta con 10% de caseína.

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre TR y las dietas fortificadas con fibra dietética (7N3AL, 5N5AL, 3N7AL) para los valores de proteína, fibra dietética total (FD), fibra insoluble (FI), fibra soluble (FS), cenizas y extracto libre de nitrógeno (ELN). Estos últimos valores eran de esperarse, debido a la alta proporción de FD, FI, FS y cenizas tanto del nopal como el alga. La diferencia presente en ELN es debido a la misma razón.

Dentro de estos resultados, se observó un incremento hasta de 30% de FD total, de la cual, siendo 7N3AL la que presenta un mayor aumento en FI con 18.6%; para FS, la formulación 3N7AL la incrementa hasta 10 veces más, respecto a TR. Para cenizas, el incremento fue casi 3 veces respecto a TR.

La fibra de ambas harinas tiene composiciones de gran interés científico. La FD de nopal está formada por mucílagos y pectinas (FS) y por hemicelulosas, celulosas y lignanos (FI), que han mostrado características hipocolesterolémicas y antidiabéticas (Trejo-González *et al.*, 1996; Galati *et al.*, 2003). Por su parte, el alga contiene una FD de mayor

complejidad, debido a la presencia de alginatos y carrageninas y principalmente, ulvano. El ulvano es un biopolímero complejo presente en la pared celular de las especies del género *Ulva*, formado de la repetición continua del disacárido de una ramnosa sulfatada y un ácido glucorónico, además de fracciones con ácido idurónico o xilosa (Percival y McDowell, 1967; Quemener, 1997). Se pueden encontrar galactosa, glucosa, manosa y fracciones de proteína resistente a digestión enzimática formando parte del ulvano (Lahaye y Jegou, 1993; Robic *et. al.*, 2009). Estas características le crean un potencial como un biopolímero funcional, tanto tecnológica como nutricionalmente.

Concerniente a la alta cantidad de cenizas, se presenta una diversidad de minerales varios. En la harina de nopal se destaca la presencia de calcio (3.4mg/g), potasio (2.1mg/g) y su bajo contenido de sodio (0.02mg/g). La biodisponibilidad del calcio está discutida, debido a que se presenta en forma de oxalato de calcio, de baja disponibilidad en el hombre (McConn y Nakata, 2004). En el caso del alga, se presentan cantidades importantes de calcio, fósforo, potasio, sodio, magnesio, zinc, cobre, yodo y hierro (Carrillo Domínguez *et. al.*, 2002; MacArtain *et. al.*, 2007). Es importante recalcar que este último puede estar biodisponible en algas, ayudando a disminuir la deficiencia de hierro (García Casal *et. al.*, 2007).

Como se señaló, el aporte de proteína también fue significativo, aumentando hasta un 36.7% para la formulación con mayor cantidad de alga (3N7AL). Mediante el aminograma anteriormente realizado (Tabla 14) se observó que tanto el nopal como el alga no eran complementarios a la proteína del maíz, debido a que no presentaban aportes importantes tanto en lisina como en triptófano (Tabla 38).

**Tabla 36. Cantidades de lisina (Lys), triptófano (Trp) y fibra dietética de dietas experimentales a base de harina de maíz nixtamalizado fortificada con harina de alga y nopal en 3 diferentes proporciones.**

Aminoácido/ Harina	TR	7N3AL	5N5AL	3N7AL	CAS	FAO/WHO std*
<b>Lys</b>	2.99 <sup>a</sup>	2.86 <sup>a</sup>	02.55 <sup>a</sup>	2.22 <sup>a</sup>	8.43 <sup>b</sup>	5.8
<b>Trp</b>	0.80 <sup>a</sup>	0.74 <sup>a</sup>	0.66 <sup>a</sup>	0.60 <sup>a</sup>	1.48 <sup>b</sup>	1.1
<b>Proteína total</b>	8.70 <sup>a</sup>	9.45 <sup>bc</sup>	10.59 <sup>c</sup>	11.7 <sup>d</sup>	11.51 <sup>d</sup>	---
<b>VAAE (%)**</b>	51.55	49.31	43.96	38.28	100	100
<b>Fibra dietética (%)</b>	10.96 <sup>b</sup>	14.26 <sup>C</sup>	14.27 <sup>C</sup>	14.29 <sup>c</sup>	5.00 <sup>a</sup>	---

Valores por mg/100g de proteína.

\*Requerimiento para un niño de 2 años FAO/WHO (1984). Datos expresados en g AA/100g proteína

\*\*Valor de aminoácido esencial= AA esencial limitante/requerimiento FAO/WHO

p < 0.05

**Tabla 37.- Comparación entre el crecimiento de ratas alimentadas con dietas basadas en tortillas regulares y fortificadas con harina de nopal y alga.<sup>1,2</sup>**

Dietas	% Proteína	Wi (g)	Wf (g)	$\Delta W$ (g)	PER
CAS	11.51 <sup>c</sup>	172.1 <sup>b</sup>	216 <sup>c</sup>	44 <sup>d</sup>	1.87 <sup>c</sup>
TR	8.59 <sup>a</sup>	162.5 <sup>a</sup>	176.5 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>	0.92 <sup>a</sup>
7N3AL	9.45 <sup>b</sup>	178 <sup>c</sup>	196 <sup>b</sup>	18 <sup>b</sup>	0.75 <sup>a</sup>
5N5AL	10.59 <sup>d</sup>	174.4 <sup>b</sup>	201.4 <sup>b</sup>	27 <sup>c</sup>	1.18 <sup>b</sup>
3N7AL	11.7 <sup>c</sup>	178.5 <sup>c</sup>	210 <sup>c</sup>	31.5 <sup>c</sup>	1.20 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>n = 6 individuos.

<sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

<sup>3</sup>Wi = peso inicial, Wf = peso final,  $\Delta W = Wf - Wi$ .

<sup>3</sup>PER = rango de eficiencia proteica.

Sin embargo, durante la elaboración del bioensayo se tomó registro de los pesos de los individuos experimentales para observar si se presentaba un cambio de peso en las ratas (Tabla 39). Como era de esperarse, hubo una diferencia de peso ( $\Delta W$ ) durante el bioensayo presentando la dieta de caseína 10% (CAS) el valor mayor, con 44g de peso ganado, siguiéndole en orden descendente 3N7AL, 5N5AL, 7N3AL y finalmente TR, con sólo 14g de peso ganado.

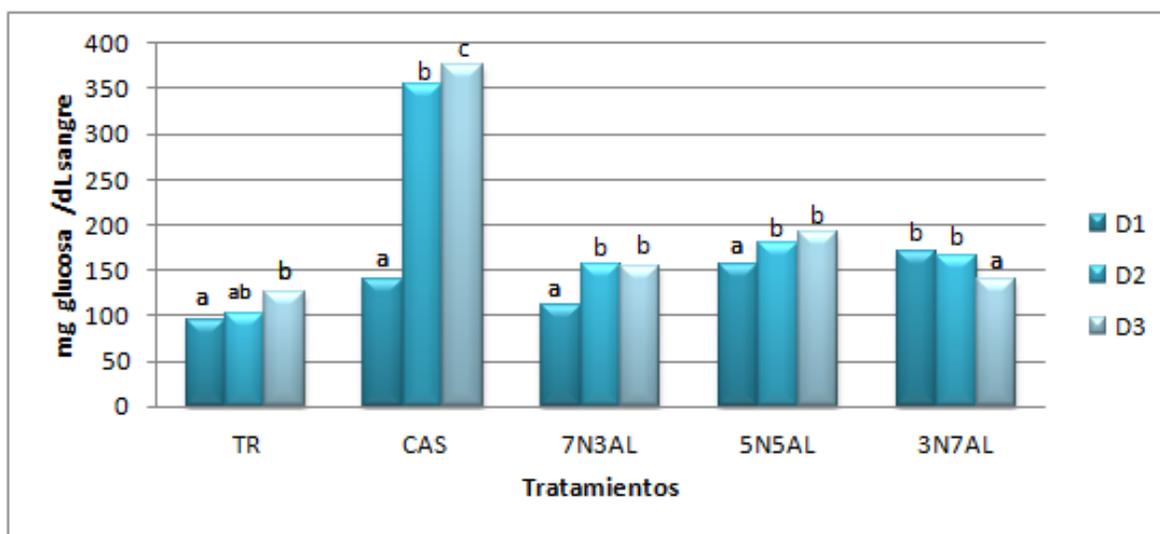
Dentro de los valores de PER, se observaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre todas las formulaciones. El PER para CAS y TR están dentro de lo reportado en literatura. Para las formulaciones experimentales se encontraron valores dispares, siendo 7N3AL el de valor menor, con 0.75. 5N5AL presentó un valor mayor, con 1.18 y la dieta con mayor cantidad de alga, 3N7AL, presentó PER de 1.20. Estos datos hacen notar que el incremento de proteína en la dieta dado por la harina de alga ayudó a obtener un valor mayor de PER pero el aporte significativo de fibra dietética, principalmente de FI en las dietas, disminuyó la absorción de ésta.

Se ha estudiado el efecto de la proteína de *Ulva* como complementaria a otras proteínas. Se han realizado bioensayos con mezclas de *Ulva spp* (15%) y soya (*Glycine max*) en ratas Wistar, analizando su crecimiento y retención de nitrógeno. Los resultados arrojados mostraron un balance adecuando entre ambas, ya que *Ulva* contiene alrededor de 2.38g de metionina/100g de proteína, por lo que complementa la deficiencia de aminoácidos azufrados de la soya, y probablemente de otras leguminosas. El PER obtenido de dicha mezcla fue de 1.4, siendo mayor al obtenido por la dieta con soya (PER 0.9). (Aguilera Morales *et. al.*, 2005). Este resultado es mayor al obtenido por mezclas de algas cafés con garbanzo (PER 1.01) y la del garbanzo (PER 0.95) (Manzano y Rosales, 1989). Esta

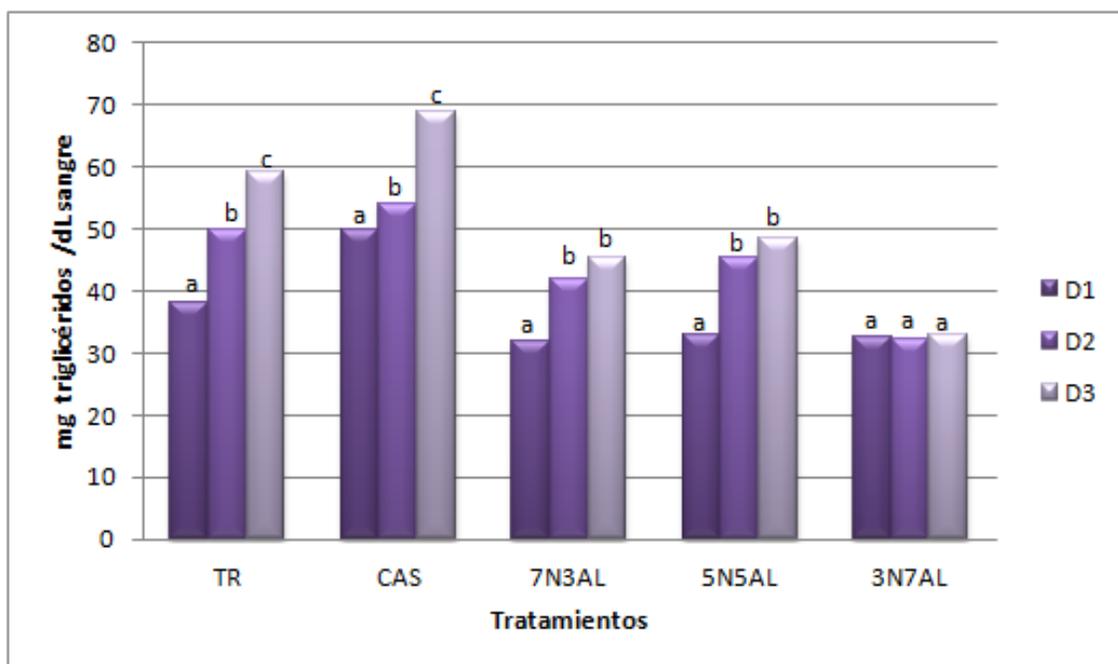
información nos abre una posibilidad en el estudio de la biodisponibilidad de la proteína del alga.

Los datos obtenidos también nos indican que a mayor cantidad de harina de nopal, el PER disminuye. En bioensayos sobre el efecto de harina de nopal en el crecimiento de ratas, se ha observado que en proporciones de 12% de inclusión causa una disminución importante en peso de las ratas. Además, se encontró que la digestibilidad de la proteína del nopal crudo y nopal cocido varía de manera importante, siendo 19.22% y 36.47%, respectivamente (Cárdenas Medellín, 1996).

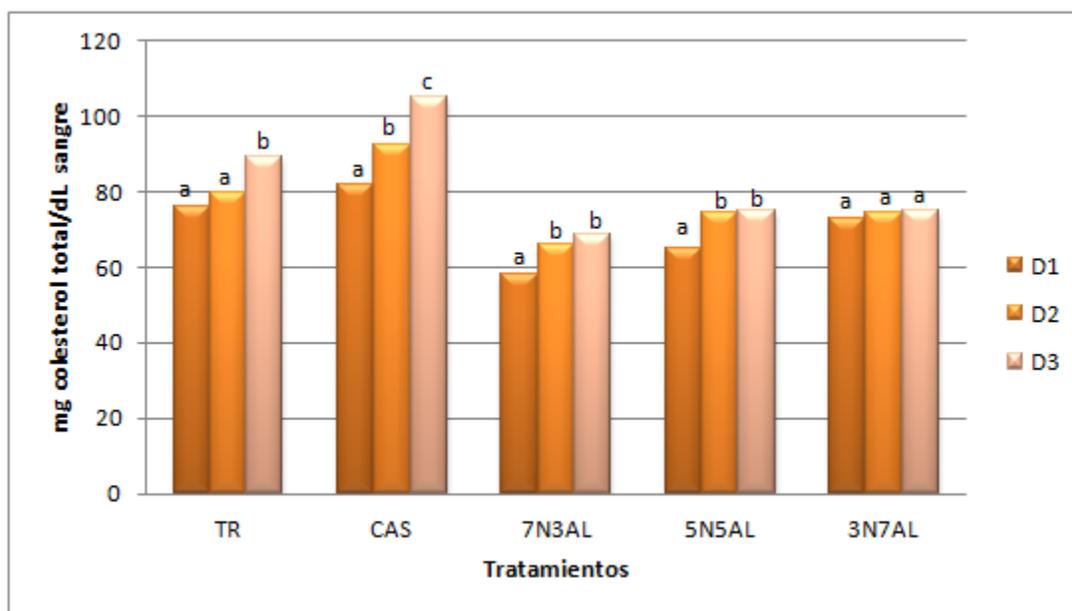
Concerniente a los análisis de suero sanguíneo realizados, se cuantificaron: glucosa, triglicéridos totales y colesterol. Los resultados de glucosa se muestran en la Fig. 15. Entre los tratamientos se presentó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre CAS y TR respecto a las dietas con nopal y alga (7N3AL, 5N5AL, 3N7AL). Entre las 3 dietas experimentales y TR no se presentó diferencia significativa durante 21 días del experimento. Es de destacar que 3N7AL presentó una tendencia a la baja en los niveles de glucosa sanguínea, presentando diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el día 0 y el día 21. Estos valores concuerdan con lo encontrado en dietas con *Ulva rigida* (Taboada *et. al.*, 2010).



**Fig 15. Cinética de glucosa en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.**



**Fig.16. Cinética de triglicéridos totales en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.**



**Fig 17. Cinética de colesterol en sangre de ratas Wistar adultas durante 21 días de alimentación con dietas a base de tortilla de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de nopal y alga en 3 diferentes concentraciones.**

Respecto a triglicéridos totales en suero sanguíneo (Fig. 16), los resultados mostraron una tendencia a la alza en las ratas alimentadas con TR, CAS, 7N3AL y 5N5AL, no así para la dieta 3N7AL, que no muestra una diferencia significativa ( $p>0.05$ ) en el transcurso de 21 días de bioensayo. El comportamiento del colesterol en sangre durante 21 días de bioensayo (Fig. 17) presentó un incremento significativo ( $p<0.05$ ) a través del tiempo en la dieta CAS, TR, 7N3AL y 5N5AL, mientras que en 3N7AL no se presentó éste, donde no se observaron cambios significativos durante el bioensayo. Además, entre las 3 dietas experimentales no se presenta diferencia significativa ( $p>0.05$ ) con respecto a los valores de colesterol en sangre. Estos valores coinciden con lo registrado con dietas con *Ulva rigida* (Taboada *et. al.*, 2010).

En la medicina tradicional, el uso de nopal está recomendado para personas que sufren de problemas cardiovasculares, diabetes e hipertensión. Esto es debido, en gran parte, por el contenido de FD total que contiene. La concentración y tipo de FD varía según la edad del cladodio (Pimienta, 1990; Flores *et. al.*, 1995; Tegegne, 2002). La fibra del nopal está principalmente formada por mucílagos y pectinas, cuando es joven, y la concentración de celulosas, hemicelulosas y lignanos aumenta con la edad (Spiller, 1992; Periago *et. al.*, 1993, Sáenz *et. al.*, 2004). La harina utilizada, según los datos obtenidos en los análisis físicoquímicos, se encuentran dentro de los valores de cladodio de nopal de 3 años de edad. Dentro de la fracción soluble, además de mucílagos y pectinas, también se encuentran ramnosa, arabinosa y glucosa, además de ácido glucorónico (Bwititi *et. al.*, 2000).

Ambas fracciones, FS y FI, han sido estudiadas desde los 1980's para observar su efecto sobre los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre en pacientes diabéticos y con sobrepeso, así como en modelos animales. Dentro de los reportes publicados sobre diabetes, se analizó el efecto de cápsulas comerciales de *Opuntia-ficus indica* en pacientes diabéticos. En éste se indicó que el efecto de la dosis recomendada (30 cápsulas diarias) era impráctico y sin un efecto significativo en los niveles séricos (Fрати Munari *et. al.*, 1992). Por otra parte, se ha observado que otras especies de nopal, como *O. streptocantha* y *O. fulginosa* presentan un mayor efecto hipoglucemiante (Trejo González *et. al.*, 1996). Además del tipo de nopal, se ha observado en numerosos estudios que la dosis y el modo de ingesta del producto afectan el efecto hipoglucemiante.

En estudios sobre ratas y humanos, se ha observado lo anterior. El consumo de nopal en proporciones de 6 y 12% en la dieta suministrada a ratas no produjo ningún cambio en los niveles de glucosa, colesterol total y colesterol asociado a HDL, excepto la dieta que contenía nopal crudo al 12%, la cual disminuyó significativamente los niveles de LDL en sangre (Cárdenas Medellín, 1996). En inclusiones mayores (48%) en dietas a base de tortilla, se ha observado un efecto significativo en los valores de glucosa, colesterol y triglicéridos, disminuyéndolos en un 17.5%, 8.5% y 9.9%, respectivamente (Guevara Arauza *et. al.*, 2011). En ambos casos, los efectos observados se les atribuyen a la presencia de la FD, principalmente a los mucílagos y pectinas, aunque no hay que dejar de lado el efecto de los antioxidantes (polifenoles, carotenos, antocianinas, entre otros) presentes en la

harina de nopal, ya que también están asociados a efectos hipocolesterolémicos e hipoglucemiantes.

La concentración de polifenoles totales presentes en los cladodios está entre 8 – 9 mg/100g de materia húmeda y alrededor de 180 mg/g de materia seca (Lee *et. al.*, 2003). La concentración de flavonoides se reporta alrededor de 8mg QE/g de cladodio. En cápsulas y harina el contenido es menor, siendo cercano a 0.5mg QE/g y 3.1mgQE/g, respectivamente (Guevara Figueroa *et. al.*, 2010). Dentro de los polifenoles y flavonoides encontrados en las diferentes especies de nopal se encuentran: ácido ferúlico, asociado a actividad antiinflamatoria, antidiabética y neuroprotectiva (Srinivasan *et. al.*, 2007); ácido gálico, que inhibe el crecimiento e induce la apoptosis de pre-adipocitos (Ross *et. al.*, 2000; Hsu y Yen, 2006, 2008; Hsu *et. al.*, 2006); kampferol y quercetina, flavonoides que ayudan a disminuir el estrés causado a cardiomiocitos (Psotová *et. al.*, 2004), y rutina, con actividad antidiabética, antiinflamatoria y anticarcinogénica (Suryavanshi *et. al.*, 2007). Por lo tanto, el efecto hipoglucemiante e hipocolesterolémico no puede ser atribuido solamente a la FD total presente en nopal.

Como se mencionó con anterioridad, el alga *Ulva clathrata* presenta características de interés biológico debido a los tipos de polímeros presentes en su FD y otros factores nutricionales a discutir. La presencia *per se* de carrageninas y alginatos es de esperarse, ya que ambos son polímeros de reserva energética característicos de las algas (MacArtain *et. al.*, 2007), estas fibras no son digeribles pero debido a su naturaleza (forman parte de FS), pueden ser fermentadas en el intestino delgado (Brownlee *et. al.*, 2005). El efecto principal de los alginatos en el tracto intestinal está relacionado al incremento del volumen fecal, asociado a la capacidad de retención de agua y de ligamiento de otras sustancias (Goni *et. al.*, 2001) lo que genera un efecto positivo en prevenir el cáncer de colon. Además, puede ligar metales pesados, disminuyendo su absorción (Sandberg *et. al.*, 1994).

Se ha estudiado el efecto de las algas sobre los niveles séricos de glucosa, triglicéridos y colesterol total. En un estudio comparativo de 4 diferentes especies de alga, se mostró una tendencia en el incremento de las HDL. Las dietas con *Ulva spp.* redujeron los niveles de colesterol total entre 14 y 16%, sin afectar el crecimiento de los animales experimentales (Wong *et. al.* 1999). En otros estudios se ha observado el mismo efecto.

Las ratas Wistar alimentadas con dietas a base de algas no vieron afectados su peso corporal, sin embargo, se incrementó el peso de sus deposiciones. Además, se observó una disminución de la actividad enzimática bacteriana, principalmente la  $\beta$  - glucosidasa y  $\beta$  - glucuronidasa, implicadas en procesos de carcinogénesis intestinal. (Andrieux *et. al.*, 1998; Urbano y Goñi, 2002). Los niveles séricos en dietas con *Ulva rigida* se vieron afectados, siendo el colesterol total disminuido de manera significativa, principalmente en su forma de LDL (Taboada *et. al.*, 2010). Estos efectos se le atribuyeron al incremento de la FS presente en las dietas con alga pero hay que considerar que se ha demostrado que a pesar de que *Ulva* contiene cantidades importantes de FS, gran parte de esta no es fermentable en el

colon (MacArtain *et. al.*, 2007), por lo que el efecto puede ser en gran parte por el ulvano y su sulfatación.

Estudios con ulvano aislado han demostrado que este polímero disminuye de manera significativa los niveles de colesterol total (45.2%) en suero sanguíneo y en su forma de LDL (54.1%), incrementando niveles de HDL y reduce niveles de triglicéridos en ratas de laboratorio. De la misma forma, incrementó la excreción de ácidos biliares, todo sin afectar el incremento de peso de los individuos experimentales (Yu *et. al.*, 2003). Además, puede ser usado para reducir el riesgo de peroxidación lipídica (Zhang *et. al.*, 2003).

De la misma forma que en el nopal, no se puede olvidar el efecto de los antioxidantes y demás fitoquímicos presentes en el alga, que pueden ejercer un efecto conjunto a los efectos ya descritos por la FD. Se han analizado extractos etanólicos y su efecto sobre ratas con diabetes inducida, obteniendo decrementos significativos en los niveles de glucosa en sangre, además de observar efectos antioxidantes y antígenotóxicos del extracto (Celikler *et. al.*, 2009).

Estos datos nos indican que la inclusión de harina de nopal y alga en las proporciones propuestas, como una fuente de fibra dietética en tortillas de maíz puede ayudar a mantener estables o disminuir los niveles séricos de glucosa, triglicéridos y colesterol total, principalmente en la dieta con mayor cantidad de alga (3N7AL), debido a los efectos hipocolesterolémicos e hipoglucemiantes de la FD total, así como de la FS, presente en 10 veces más que la dieta control TR. Dichos efectos posiblemente se maximicen por un efecto sinérgico con los fitoquímicos presentes.

## CONCLUSIONES

### Capítulo 1

1. Las formulaciones fortificadas con harina de frijol y amaranto obtuvieron un aumento significativo de proteína rica en Lys y Trp, principalmente 3F7A (48% y 40% de incremento, respectivamente).
2. Las tortillas resultantes mostraron una adhesión variable y mayor suavidad respecto a TR, debido a la presencia de mayor cantidad de proteína.
3. Las formulaciones fortificadas con harina de nopal y alga presentan un incremento significativo en la cantidad de fibra dietética (30%), principalmente fibra soluble, presente hasta en 10 veces más en 3N7AL.
4. Hay un incremento en la cantidad de agua retenida, tanto en masa (IAA), como en la tortilla (%H<sub>2</sub>O), debido al aumento de fibra dietética.
5. Ambos grupos de formulaciones presentaron características similares, reológica y texturalmente, respecto a TR, con valores adecuados de calidad, generando tortillas aceptables tecnológicamente.
6. Las formulaciones con frijol y amaranto no incrementan significativamente la cantidad de polifenoles, así como su actividad antioxidante. Las fórmulas con harina de nopal y alga sí presentaron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en ambos parámetros pero este efecto no perduró tras el tratamiento térmico.

## Capítulo 2

1. Los cambios reológicos y texturales de masas y tortillas se vieron reflejados en el análisis sensorial y vida de anaquel, afectando la aceptación y rolabilidad de los productos terminados.
2. Las formulaciones presentan una vida de anaquel de 3 días a temperatura ambiente, modificando su rolabilidad y cantidad de humedad. Dichos valores son equiparables a lo citado por la literatura.
3. Sensorialmente, se presentó diferencia significativa. En las formulaciones con frijol y amaranto, 3F7A fue la formulación de mayor aceptación (30%) después de TR. En las formulaciones con nopal y alga, 5N5AL fue la de mayor aceptación (35%) respecto a TR.

### Capítulo 3

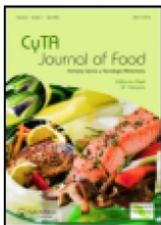
1. La fortificación proteínica favoreció el crecimiento y desarrollo de ratas Wistar, en un ciclo de 2 generaciones, presentando la dieta 3F7A resultados similares al control de caseína en la primera generación.
2. Se recomienda 3F7A como una opción al problema de proteína de baja calidad/cantidad, dando como resultado una tortilla de características similares a TR.
3. Las formulaciones fortificadas con fibra dietética, principalmente 3N7AL, presentan un efecto positivo en la disminución de glucosa, triglicéridos y colesterol total en sangre.
4. Se recomienda 3N7AL como una alternativa de alimento coadyuvante en persona con sobrepeso y obesidad, debido a su efecto en suero sanguíneo.

## Recomendaciones

1. Realizar un análisis más a profundo sobre la termoestabilidad y retención de fitoquímicos con capacidad antioxidante dentro de harinas, masas y tortillas fortificadas.
2. Realizar pruebas objetivas sobre la aceptación sensorial de formulaciones fortificadas para corroborar y/o refutar los resultados obtenidos.
3. Analizar los efectos en suero sanguíneo de formulaciones fortificadas con harina de frijol y amaranto, para dar mayor sustento a los beneficios obtenidos en estas.
4. Estudiar la fisicoquímica, reología y biodisponibilidad de nutrientes presentes en el alga *Ulva clathrata*, debido a que es un material biológico emergente de gran interés científico y comercial.
5. Realizar costos de producción para una posible comercialización de los productos con mayor aceptación y mejores resultados biológicos, 3F7A y 3N7AL.

## **ANEXOS**

This article was downloaded by: [Jesus Vazquez]  
On: 26 February 2013, At: 15:04  
Publisher: Taylor & Francis  
Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



## CyTA - Journal of Food

Publication details, including instructions for authors and subscription information:  
<http://www.tandfonline.com/loi/tcyt20>

### Study of the fortification with bean and amaranth flours in nixtamalized maize tortilla

J.A. Vázquez-Rodríguez <sup>a</sup>, C.A. Amaya-Guerra <sup>a</sup>, J.G. Báez-González <sup>a</sup>, M.A. Núñez-González <sup>a</sup> & J.D. Figueroa-Cárdenas <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Avenida Universidad s/n, Cd. Universitaria, 66450 San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México

<sup>b</sup> Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente No. 2000, Frac. Real de Juriquilla, 76230 Querétaro, México

Version of record first published: 26 Feb 2013.

To cite this article: J.A. Vázquez-Rodríguez, C.A. Amaya-Guerra, J.G. Báez-González, M.A. Núñez-González & J.D. Figueroa-Cárdenas (2013): Study of the fortification with bean and amaranth flours in nixtamalized maize tortilla, *CyTA - Journal of Food*, DOI:10.1080/19476337.2012.753644

To link to this article: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2012.753644>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.tandfonline.com/page/terms-and-conditions>

This article may be used for research, teaching, and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, redistribution, reselling, loan, sub-licensing, systematic supply, or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae, and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand, or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

## Study of the fortification with bean and amaranth flours in nixtamalized maize tortilla

### Estudio del efecto de la fortificación con harinas de frijol y amaranto sobre tortilla de maíz nixtamalizado

J.A. Vázquez-Rodríguez<sup>a\*</sup>, C.A. Amaya-Guerra<sup>a</sup>, J.G. Báez-González<sup>a</sup>, M.A. Núñez-González<sup>a</sup> and J.D. Figueroa-Cárdenas<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Alimentos, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Avenida Universidad s/n, Cd. Universitaria, 66450 San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México; <sup>b</sup>Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del IPN, Unidad Querétaro, Libramiento Norponiente No. 2000, Frac. Real de Juriquilla., 76230 Querétaro, México

(Received 30 September 2012; final version received 25 November 2012)

The aim of this study was to compare the physicochemical, rheological and textural tortillas of nixtamalized maize flour fortified with common bean (*Phaseolus vulgaris*) and amaranth (*Amaranthus* spp.) flours in three different proportions (3F7A, 5F5A and 7F3A) with respect to commercial maize flour (TR). Also, their effect on growth was assessed by a bioassay of two generations with Wistar rats. Treatments obtained similar efficiencies to TR, plus a significant increase in the protein. They showed a similar behavior in water absorption capacity (WAC) and rollability, crucial factors to the proper development of the dough and its acceptance, respectively. Furthermore, the treatments presented a significant difference ( $p < 0.05$ ) in bioassay, showing 3F7A similar behavior between casein control. The formulations developed in this research, primarily 3F7A, are a viable option for bioavailable protein-fortified tortillas, rich in lysine, that show textural and rheological properties analogous to regular tortilla.

**Keywords:** maize tortilla; fortification; development

El objetivo de este estudio fue comparar fisicoquímica, reológica y texturalmente tortillas de harina de maíz nixtamalizado fortificadas con frijol (*Phaseolus vulgaris*) y amaranto (*Amaranthus* spp.) en tres proporciones diferentes (3F7A, 5F5A, 7F3A) con respecto a la harina de maíz comercial (TR). Además, se evaluó su efecto sobre el crecimiento mediante un bioensayo de dos generaciones con ratas Wistar. Los tratamientos mostraron rendimiento similar a TR, además de aumentar significativamente la proteína. Estos revelaron un comportamiento similar en capacidad de absorción de agua (CAA) y rollabilidad, factores cruciales para el correcto desarrollo de la masa y aceptación, respectivamente. Además, los tratamientos presentaron diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) en el bioensayo, mostrando un comportamiento similar entre 3F7A caseína control. Las formulaciones desarrolladas en la investigación, principalmente 3F7A, son una opción viable como tortillas fortificadas con proteína biodisponible rica en lisina y propiedades de texturales y reológicas análogas a la tortilla regular.

**Palabras clave:** tortilla; fortificación; desarrollo

#### Introduction

The maize tortilla is considered to be an excellent source of calories due to its high content of starch, and it is an excellent choice for people with gluten intolerance. Unfortunately, the maize tortilla lacks a good quality protein (Serna-Saldivar & Amaya-Guerra, 2008). Mexico produces over 230,000 tons of nixtamalized maize flour every month, equivalent to 370,000 tons of tortillas and a monthly consumption of 4.1 kg of tortilla/person (Serna-Saldivar & Amaya-Guerra, 2008). The tortillas and other maize products are the most consumed by the Mexican population. In rural areas, this cereal provides about 70% of calories and 50% of total protein (Pérez-Herrera, Esquivel-Esquivel, Rosales-Serna, & Acosta-Gallegos, 2002). Since the early 1970s, fortification plans of maize tortilla have been developed with different protein sources such as common bean (*Phaseolus vulgaris*) or soybean (*Glycine max*) but without reaching the general population, due to lack of financial resources to purchase these foods (Serna-Saldivar & Amaya-Guerra, 2008). In addition, these products have different sensory characteristics to the

traditional tortilla, texture being one of the most important factors for the approval of certain foods by consumers as well as its rheology (Rodríguez-Sandoval, Fernández Quintero, & Ayala Aponte, 2005). Both textural and rheological properties are critical in the research and development of new products because they are intrinsically related to the physicochemical and functional properties of the constituents of the food system, as well as operating variables that apply at different stages of the process (Rodríguez-Sandoval et al., 2005). Maize tortillas, fortified or not, have particular physical characteristics and rheological properties due to high concentrations of starch in their systems. The starch owes much of this functionality to two major high-molecular-weight carbohydrate components: amylose and amylopectin, as well as to the physical organization of these macromolecules into the granular structure (French, 1984). It is of great importance to understand the physicochemical characteristics of starches so as to predict the functional properties of starchy food products that improve the acceptability of them (Méndez-Montelvo, Sánchez-Rivera, Paredes-López, &

\*Corresponding author. Email: jealvaro@gmail.com

Bello-Pérez, 2006). The aim of this study was to compare the physicochemical and rheological properties of the resulting doughs and tortillas of nixtamalized maize flour fortified with bean and amaranth flours in different proportions, and their biological evaluation, to commercial maize flour.

## Experimental

### Formulation of flours and doughs

We used commercial nixtamalized maize flour for different formulations. Amaranth flour was obtained from previously puffed grains. The bean flour was obtained from cooked and grinded seeds (Cárdenas-Quintana, Gómez-Bravo, Díaz-Novoa, & Camarena-Mayta, 2000). The samples were sieved through a mesh (# 40) and then mixed in different proportions to obtain three treatments (Table 1). The flours of each treatment were mixed with water until the doughs were smooth and the humidity was around 55%. Moisture was analyzed by gravimetric method (10.136 AOAC) and protein by Kjeldhal method (930.29 AOAC) (Helrich, 1990), lysine by derivatization in high performance liquid chromatography (Kamp, 1991) and tryptophan by a fluorescence assay kit (Table 1).

### Color

The color measurements were made by colorimetric tristimulus reflectance method. Instrument conditions were: an opening diameter of 65 mm and a viewing angle of 10°, calibrated with a standard plate Master Color Data Hunter brand. The color was measured according to the technique used by Martínez et al. (2001). For the determination of color in the tables, this was placed inside a black box to keep out light and the parameters a\*, b\* and L\* were determined in triplicate, both in flour and tortillas.

### Dough yield

Tortillas were made using a manual tortilla machine (Lenin, Mexico), where the prepared dough was obtained in the form of wafers of 0.1 mm wide and  $12.5 \pm 0.1$  cm in diameter. Testing of the tortillas was made 30 min after processing (ambient temperature = 25°C).

### Texture

The adhesiveness and cohesiveness of the doughs were determined by a texture profile analysis using a texture analyzer TA XT2 (Texture Analyzer plus, UK). The results obtained from the determination were analyzed using

Table 1. Formulations of flour fortified with different proportions of amaranth and bean flours.

Tabla 1. Formulaciones de harinas fortificadas con diferentes proporciones de harina de amaranto y frijol.

Treatment	Formulation
3F7A	900 g/kg maize, 30 g/kg bean, 70 g/kg amaranth
5F5F	900 g/kg maize, 50 g/kg bean 50 g/kg amaranth
7F3A	900 g/kg maize, 70 g/kg bean, 30 g/kg amaranth
TR	1000 g/kg nixtamalized maize

Microcal Origin 6.0 software. The adhesiveness and cohesiveness tests were carried out at a speed of 2 mm/s (length = 4 mm with a count = 4). The shear stress was performed under conditions of 2 mm/s speed, 6 mm length and with count 6. The tensile test was carried out with a speed of 2 mm/s, 15 mm longitude and count 1. The rollability proof of the tortillas was made subjectively (Martínez et al., 2001).

### Absorption rate and water solubility

These methods consist of calculating the amount of dissolved material the proportion of water absorbed after stirring a suspension at room temperature. They were determined according to the methodology described by Anderson, Conway and Griffin (1969). The water absorption index (WAI) was expressed as the ratio between the weight of the residue after centrifugation and the dry weight of the sample, from which was subtracted the weight of the residue from evaporation of the supernatant. The water solubility index (WSI) was expressed as the ratio of the residue from evaporation and the dry weight of the sample. Both were measured three times per treatment and calculated as follows:

$$\text{WAI} = \frac{\text{Residual weight centrifugation}}{\text{Sample weight} - \text{Residual weight evaporation}}$$

$$\text{WSI} = \left( \frac{\text{Residual weight evaporation}}{\text{Sample weight}} \right) \times 100.$$

### Gelatinization enthalpy

The determination of temperatures and enthalpies of gelatinization was made using a thermogravimetric technique, specifically, differential scanning calorimetry (DSC) (Arambula, Gutierrez Arias & Moreno Martinez, 2006). We used a DSC 288e (Mettler, Toledo, Spain). The program consisted of a temperature sweep of 30 to 100°C using a temperature ramp of 5°C/min and an empty pan as reference. The trays used were sealed aluminum pans, Tzero of 40 microliter. The thermograms were analyzed using universal analysis software.

### Bioassay

We conducted a two-generation bioassay to assess the effect of protein fortification in growth. Wistar rats were around one month of age, and were fed for 10 days. These rats were reproduced for a second generation. Pregnant and lactating mothers were fed the same diet as their offspring, until one month of age. Each rat was housed in individual cages under standard conditions (12:12 h light/darkness, 50% relative humidity and 21°C ± 2). They were fed and water *ad libitum*. The assay had a control with 10% casein (Amaya Guerra, Alanis Guzman, & Serna Saldivar, 2004). Nitrogen was determined in urine and faeces collected from Wistar rats during a period of 10 days (Amaya Guerra, Alanis Guzman, & Serna Saldivar, 2004). The digestibility and nitrogen retention value was calculated using the following formulas:

$$\text{Protein efficiency ratio (PER)} = \frac{\text{Gain in body mass (g)}}{\text{Protein intake (g)}}$$

$$\text{Apparent protein digestibility (APD)} \\ = \frac{(\text{Diet consumed (\%N)} - \text{Faeces (\%N)})}{\text{Diet consumed (\%N)}} \times 100$$

$$\text{Biological value (BV)} \\ = \frac{(\text{Diet consumed (\%N)} - \text{Faeces (\%N)} - \text{Urine (\%N)})}{\text{Diet consumed (\%N)} - \text{Faeces (\%N)}} \times 100$$

$$\text{Net protein utilization (NPU)} = (\% \text{PAD})(\% \text{BV})/100.$$

### Results and discussion

The results shown by the fortification with bean and amaranth flour revealed a significant difference ( $p < 0.05$ ) between TR (100% maize formulation) and the different treatments, namely that the 5F5A formulation has a higher protein value, increasing 23.28%, with respect to TR (Table 2). In addition, the fortification with both flours contribute an important increase of lysine and tryptophan, limit amino acids in maize products, presenting an increase of 48.07% for lysine and 40% for tryptophan in 3F7A treatment. Similar results were obtained in a nixtamalized process of maize-bean tortillas, where the research showed 9.71% protein,

Table 2. Results of moisture, protein, lysine and tryptophan (dry basis) of fortified nixtamalized maize flour with bean and amaranth flours in three different proportions.<sup>1,2</sup>

Tabla 2. Resultados de humedad, proteína, lisina y triptófano (base seca) de harina de maíz nixtamalizado fortificada con harinas de frijol y amaranto en 3 diferentes proporciones.

Component	FAO requirement			
	TR	3F7A	5F5A	7F3A
Moisture (mL/kg)	98.60 <sup>a</sup>	103.10 <sup>a</sup>	101.50 <sup>a</sup>	101.80 <sup>a</sup>
Protein (g/kg)	85.90 <sup>a</sup>	91.66 <sup>b</sup>	105.90 <sup>c</sup>	100.20 <sup>c</sup>
Lysine <sup>3</sup>	54.4	26.00 <sup>a</sup>	38.50 <sup>c</sup>	34.90 <sup>b</sup>
Tryptophan <sup>3</sup>	11.0	7.00 <sup>a</sup>	9.80 <sup>d</sup>	8.50 <sup>b</sup>

Note: <sup>1</sup>Mean of three replicates. <sup>2</sup>Mean values with the different letter in the same line are significantly different ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Amino acids are expressed in g/kg protein.

Nota: <sup>1</sup>Promedio de tres replicas. <sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma linea son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Aminoácidos son expresados en g/kg de proteína.

Table 3. Color measurements, water absorption capacity (WAC), water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI), adhesiveness and cohesiveness strengths of fortified maize flour doughs with bean and amaranth flours in three different proportions.<sup>1,2</sup>

Tabla 3. Mediciones de color, capacidad de absorción de agua (CAA), índice de absorción (IAA) y de solubilidad de agua (ISA), fuerza de adhesión y cohesión de masas de maíz fortificadas con harinas de frijol y amaranto en 3 diferentes proporciones.

Treatment	L	a*	b*	WAC (%)	Mass efficiency (%)	WAI (g gel/g sample)	WSI (%)	Adhesiveness (g)	Cohesiveness (g)
TR	92.24 <sup>a</sup>	-0.81 <sup>a</sup>	0.62 <sup>a</sup>	1.32 <sup>a</sup>	2.31 <sup>a</sup>	5.45 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	196.47 <sup>b</sup>	36.16 <sup>b</sup>
3F7A	82.49 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	0.84 <sup>b</sup>	1.19 <sup>a</sup>	2.19 <sup>a</sup>	6.96 <sup>b</sup>	5.42 <sup>a</sup>	173.33 <sup>b</sup>	41.66 <sup>c</sup>
5F5A	82.95 <sup>b</sup>	0.77 <sup>b</sup>	12.62 <sup>b</sup>	1.28 <sup>a</sup>	2.28 <sup>a</sup>	7.01 <sup>b</sup>	5.10 <sup>a</sup>	152.66 <sup>a</sup>	36.62 <sup>b</sup>
7F3A	83.08 <sup>b</sup>	0.73 <sup>b</sup>	12.69 <sup>b</sup>	1.21 <sup>a</sup>	2.21 <sup>a</sup>	6.99 <sup>b</sup>	4.85 <sup>a</sup>	218.03 <sup>d</sup>	25.76 <sup>a</sup>

Note: <sup>1</sup>Mean of three replicates. <sup>2</sup>Mean values with different letter in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).  $L^* = 0$  yields black and  $L^* = 100$  indicates diffuse white.  $a^*$ , negative values indicate green while positive values indicate magenta.  $b^*$ , negative values indicate blue and positive values indicate yellow. % w/w (g/100 g).

Nota: <sup>1</sup>Promedio de tres replicas. <sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).  $L^* = 0$  produce negro,  $L^* = 100$  indica un blanco difuso.  $a^*$ , valores negativos indican verde mientras valores positivos indican magenta.  $b^*$ , valores negativos indican azul mientras valores positivos indican amarillo. % p/p (g/100g).

lysine 30 g/kg protein and 4.26 tryptophan g/kg protein with 95:5 maize:bean blend (Cuevas-Martínez, Moreno-Ramos, Martínez-Manrique, Moreno-Martínez, & Méndez-Albores, 2010).

Regarding color and texture, the analysis of doughs revealed significant differences ( $p < 0.05$ ) in color, WAI, adhesiveness and cohesiveness of doughs (Table 3). The fortified doughs are notably more yellowish and less luminous by the addition of colored flours. Differences in the control behavior may be caused by diverse reasons, such as the use of commercial maize flour in assay, the presence of foreign starches and differences of amylase-amylpectin ratio.

Some research had shown significant variability in commercial maize flours due to kernel type and storage and process conditions (Bedolla & Rooney, 1984; Flores Fariás, Martínez Bustos, Salinas Moreno, & Ríos, 2002). Also, this maize flour type has guar gum, which affects the swelling behavior of starch during the blending and heating processes (Nagano, Tamaki, & Funami, 2008). Regarding the presence of foreign starches, amaranth and bean give shape and size heterogeneity of starch granules and variability to percentages of amylase and amylopectin, affecting retrogradation and viscosity (Paredes-López, Maza-Calviño, González-Castañeda, & Montes-Rivera, 1988; Paredes-López, Schevenin, Hernández-López, & Cárabez-Trejo, 1989), as well as the cohesiveness and adhesiveness of the dough (Serna-Saldivar, Canett, Vargas, Gonzales, & Bedolla, 2008).

Table 4. Onset (*Tonset*) and peak (*Tp*) temperatures and gelatinization enthalpy ( $\Delta H$ ) by formulations of nixtamalized maize flour fortified with bean and amaranth flours in three different proportions.<sup>1,2</sup>

Tabla 4. Temperaturas inicial (*Tonset*) y pico (*Tp*) y entalpía de gelatinización ( $\Delta H$ ) de formulaciones de harina de maíz nixtamalizado fortificadas con frijol y amaranto en 3 diferentes proporciones.

Treatment	<i>Tonset</i> (°C)	<i>Tp</i> (°C)	$\Delta H$ (mJ)
TR	64.43 <sup>a</sup>	71.11 <sup>a</sup>	6.30 <sup>a</sup>
3F7A	64.69 <sup>b</sup>	71.31 <sup>a</sup>	6.92 <sup>a</sup>
5F5A	65.29 <sup>b</sup>	71.83 <sup>a</sup>	6.35 <sup>a</sup>
7F3A	64.91 <sup>b</sup>	71.73 <sup>a</sup>	6.98 <sup>a</sup>

Note: <sup>1</sup>Mean of three replicates. <sup>2</sup>Mean values with different letter in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Nota: <sup>1</sup>Promedio de tres replicas. <sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

## 4 J.A. Vázquez-Rodríguez et al.

Table 5. Color measurement, rollability, tensile strength, breaking distance and cutting force in fortified maize tortillas with bean and amaranth flours in 3 different proportions.<sup>1,2</sup>

Tabla 5. Medición de color, rolabilidad, fuerza de extensión, distancia de ruptura y trabajo de corte en tortillas de maíz fortificadas con harinas de frijol y amaranto en 3 diferentes proporciones.

Treatment	L	a*	b*	Rollability <sup>3</sup>	Tensile strength (N)	Breaking distance (mm)	Cutting force (N)
TR	74.12 <sup>a</sup>	1.20 <sup>a</sup>	19.46 <sup>a</sup>	1.00 <sup>a</sup>	1.65 <sup>a</sup>	6.03 <sup>b</sup>	6.66 <sup>d</sup>
3F7A	68.29 <sup>b</sup>	3.58 <sup>b</sup>	18.96 <sup>a</sup>	1.10 <sup>a</sup>	1.15 <sup>a</sup>	5.10 <sup>a</sup>	4.53 <sup>a</sup>
5F5A	68.12 <sup>b</sup>	3.49 <sup>b</sup>	19.33 <sup>a</sup>	1.12 <sup>a</sup>	1.08 <sup>a</sup>	5.33 <sup>a</sup>	5.22 <sup>b</sup>
7F3A	69.20 <sup>b</sup>	3.34 <sup>b</sup>	18.80 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	1.16 <sup>a</sup>	4.15 <sup>a</sup>	5.98 <sup>c</sup>

Note: <sup>1</sup>Mean of three replicates. <sup>2</sup>Mean values with different letter in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Tortilla rollability: 1 = tortillas with no breaking, 2 = a partial breaking at the center and edges of the tortilla and 3 = completely damaged tortillas. N = Newton, mm = millimeters.

Nota: <sup>1</sup>Promedio de tres replicas. <sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Tortilla rollability: 1 = tortilla sin rompimiento, 2 = parcial rompimiento en el centro y bordes de la tortilla y 3 = tortilla con daño completo. N = Newton, mm = milímetros.

Table 6. Comparison of growth of Wistar rats feed with diets based in fortified nixtamalized maize tortilla with bean and amaranth, in a two-generation bioassay.<sup>1,2</sup>Tabla 6. Comparación del crecimiento de ratas Wistar alimentadas con dietas basadas en tortillas de maíz nixtamalizado fortificadas con harina de frijol y amaranto en un bioensayo de 2 generaciones.<sup>1,2</sup>

Diet	Protein (g/kg)	Wi (g)	Wf (g)	$\Delta W$ (g)	PER	APD	BV	NPU
1 <sup>o</sup> Generation								
Control	100.00 <sup>e</sup>	92.5 <sup>b</sup>	122 <sup>b</sup>	29.5 <sup>b</sup>	2.25 <sup>c</sup>	85.39 <sup>c</sup>	78.79 <sup>b</sup>	77.38 <sup>d</sup>
TR	85.90 <sup>a</sup>	87 <sup>a</sup>	111.5 <sup>a</sup>	24.5 <sup>a</sup>	1.67 <sup>a</sup>	76.64 <sup>a</sup>	70.94 <sup>a</sup>	54.37 <sup>a</sup>
7F3A	100.20 <sup>e</sup>	106.4 <sup>d</sup>	140.8 <sup>d</sup>	34.4 <sup>c</sup>	1.78 <sup>b</sup>	85.91 <sup>c</sup>	80.99 <sup>b</sup>	69.58 <sup>c</sup>
3F7A	91.66 <sup>b</sup>	87.75 <sup>a</sup>	129.75 <sup>c</sup>	42 <sup>d</sup>	2.13 <sup>c</sup>	85.36 <sup>c</sup>	79.40 <sup>b</sup>	67.78 <sup>c</sup>
5F5A	105.90 <sup>e</sup>	95.6 <sup>c</sup>	130.8 <sup>c</sup>	35.2 <sup>c</sup>	1.90 <sup>b</sup>	83.99 <sup>b</sup>	77.88 <sup>b</sup>	65.41 <sup>c</sup>
2 <sup>o</sup> Generation								
Control	100.00 <sup>e</sup>	61.5 <sup>b</sup>	84.5 <sup>c</sup>	23.0 <sup>c</sup>	2.22 <sup>d</sup>	95.38 <sup>c</sup>	92.81 <sup>c</sup>	93.50 <sup>d</sup>
TR	85.90 <sup>a</sup>	80.75 <sup>c</sup>	105 <sup>d</sup>	24.25 <sup>c</sup>	0.84 <sup>a</sup>	51.39 <sup>a</sup>	50.86 <sup>a</sup>	50.74 <sup>a</sup>
7F3A	100.20 <sup>e</sup>	57.5 <sup>a</sup>	68.17 <sup>a</sup>	10.67 <sup>a</sup>	1.52 <sup>b</sup>	92.86 <sup>b</sup>	90.62 <sup>b</sup>	84.15 <sup>b</sup>
3F7A	91.66 <sup>b</sup>	64 <sup>c</sup>	80.83 <sup>b</sup>	16.83 <sup>b</sup>	1.86 <sup>d</sup>	92.36 <sup>b</sup>	89.83 <sup>b</sup>	82.96 <sup>b</sup>
5F5A	105.90 <sup>e</sup>	71.5 <sup>d</sup>	82.67 <sup>c</sup>	11.17 <sup>a</sup>	1.63 <sup>c</sup>	94.68 <sup>c</sup>	93.15 <sup>c</sup>	88.20 <sup>c</sup>

Note: <sup>1</sup>Mean of six individuals. <sup>2</sup>Mean values with different letter in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Wi = initial weight, Wf = final weight,  $\Delta W = Wf - Wi$ . <sup>4</sup>PER = protein efficiency ratio, APD = apparent protein digestibility, BV = biological value, NPU = net protein utilization.

Nota: <sup>1</sup>Promedio de seis individuos. <sup>2</sup>Valores promedio con diferente letra en la misma columna son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ). <sup>3</sup>Wi = peso inicial, Wf = peso final,  $\Delta W = Wf - Wi$ . <sup>4</sup>PER = rango de eficiencia proteica, APD = digestibilidad aparente de proteina, BV = valor biológico, NPU = utilización neta de proteina.

In the case of amylose, the difference percentages of this starch component, 4.7–12.5% in amaranth (Kong, Bao, & Corke, 2009) and 34–39% in bean (Ovando-Martínez, Osorio-Díaz, Whitney, Bello-Pérez, & Simsek, 2011), possibly had an important role, because the amylose is correlated negatively to adhesiveness (Sahai, Buendía, & Jackson, 2001). Still, it is reported that water absorption capacity (WAC) has a greater effect on the tensile properties of the dough than the other factors mentioned above, as well the particle size of the starch granule (Pérez-Herrera et al., 2002).

Concerning the behavior about gelatinization of starch (Table 4) in the treatments; a significant difference ( $p < 0.05$ ) was observed between treatments in  $T_{onset}$  values, as well not for  $T_p$  and  $\Delta H$ . In previous research, it has been observed that with bigger  $T_{onset}$  values, the samples contained more protein and had been more physical and thermally processed (Sandoval Aldana, Rodríguez Sandoval, & Fernández Quintero, 2005; Wannenberg & Eliasson, 1993). These data are supported with the  $\Delta H$  values, which suggest several process conditions; because some starches lost their birefringence and low energy is necessary for the phase transition (Méndez-Montelvo et al., 2006).

In reference to the tortillas, the results show significant differences ( $p < 0.05$ ) in color measurements, and cutting

force. The tortillas obtained were less luminous and more yellow than the control but they presented similar values of rollability, tensile strength and breaking distance, which exposed a product with acceptable texture values, analogous to the control (Table 5). These results are similar to those reported for maize:bean blends (Cuevas-Martínez et al., 2010); showing 1.1N to tensile strength, 7.9N to cutting force and 1 to rollability. In that case, the color was not affected because the bean was a white bean variety. The decrease in cutting force values could be caused by the amaranth flour, as previous research has observed that inclusion of amaranth makes a softer and wetter dough and tortilla (Méndez-Albores et al., 2003).

In the bioassay, the treatments showed similar behavior with respect to 1<sup>o</sup> and 2<sup>o</sup> generations of rats, indicating a significant difference ( $p < 0.05$ ) for diets fortified with bean and amaranth flours with respect to TR. It is important to note that 3F7A, which has just 6.7% protein increase with respect to TR, showed a comparable behavior with the control, which contained 10% casein as nitrogen source (Table 6). It could be because this treatment showed an important increase in limiting the amino acids lysine and tryptophan, 48.07% and 40%, respectively. These values illustrate that fortification with bean and amaranth, particularly 3F7A, would increase weight in a comparable mode to the control, even with the presence of bean

flour, which formerly was not recommended for fortification due the presence of antinutritional and the high cost of bean products (Serna-Saldivar, Canett, Vargas, Gonzales, & Bedolla, 1988).

That the treatments increase the weight in Wistar rats significantly, even with a low percentage of protein in the diet, could be explained by the fact that it is known that low levels of protein consumption lead to a higher retention of nitrogen, even more when the type of protein fortification has balanced amino acid values (Chavez & Muñoz de Chavez, 2003; Rosado, López, Morales, Muñoz, G. & Allen, 1992).

### Conclusions

After formulating maize:bean:amaranth blends, there was significant improvement in different fortified tortillas with regard to protein, lysine and tryptophan content, mainly with 3F7A, which has increases of up to 48% and 40% of these limiting amino acids, respectively. These formulations show physicochemical, rheological and textural properties similar to the commercial maize tortilla formulations, showing analogous results in WAC in the doughs, and the same rollability and tensile strength in tortilla. Therefore, as an alternative to resolve the problem of low protein quantity/quality of maize-based food products without variation in process or equipment, the fortification with amaranth and common bean, particularly with 3% bean and 7% amaranth, is suggested.

### Acknowledgements

The authors thank the laboratory of Bioorganic Materials CINVESTAV IPN, Querétaro Unit, especially Dr. Juan de Dios Figueroa Cárdenas and his staff for the facilities provided to carry out this research.

### References

- Amaya Guerra, C.A. Alanís Guzman, M.G. & Serna Saldivar, S.O. (2004). Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla based diets elaborated from regular and quality protein maize. *Plant Food for Human Nutrition*, 59, 45–50.
- Anderson, R.A., Conway, V.F., & Griffin, E.L. (1969). Gelatinization of corn grits by roll- and extrusion-cooking. *Cereal Science Today*, 14, 4–12.
- Arambula, G., Gutierrez Arias, E., & Moreno Martinez, E. (2006). Thermal properties of maize masa and tortillas with different components from maize grains, and additives. *Journal of Food Engineering*, 80, 55–60.
- Bedolla, S. & Rooney, L.W. 1984. Characteristics of U.S. and Mexican instant maize flours for tortilla and snack preparation. *Cereal Foods World*, 29, 732–735.
- Cárdenas-Quintana, H., Gómez-Bravo, C., Díaz-Novoa, J., & Camarena-Mayta, F. (2000). Evaluación de la calidad de la proteína de 4 variedades mejoradas de frijol. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 14, 22–27.
- Chavez, A. & Muñoz de Chavez, M. (2003). *La tortilla de alto valor nutritivo*. México. McGraw-Hill.
- Cuevas-Martínez, D., Moreno-Ramos, C., Martínez-Manrique, E., Moreno-Martínez, E., & Méndez-Albores, A. (2010). Nutrition and texture evaluation of maize-white common bean nixtamalized tortillas. *Interciencia*, 35, 828–832.
- Flores Fariás, R., Martínez Bustos, F., Salinas Moreno, Y., & Ríos, E. (2002). Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. *Agrociencia*, 5, 557–567.
- French, A.D. (1994). Organization of starch granules. In R.L. Whistler, E.F. Paschall, J.N. BeMiller (Eds.), *Starch chemistry and technology* (pp. 183–247), 2nd ed. London, UK. Academic Press.
- Helrich, K. (Ed.). (1990). Official methods of analysis (15th ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Kamp, R.M. 1991. High-sensitivity amino acid analysis using high performance liquid chromatography and precolumn derivatization. *LC-GC International*, 4, 40–46.
- Kong, X., Bao, J., & Corke, H. (2009). Physical properties of *Amaranthus* starch. *Food Chemistry*, 113, 371–376.
- Martínez, F., Martínez, H., Sanmartín, E., Sánchez, F., Chang, Y., Barrera, D., & Ríos, E. (2001). Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalization process. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1455–1462.
- Méndez-Albores, J.A., Arámula, V.G., Vázquez, B.M.E., Mendoza, E.M., Preciado, O.R.E., & Moreno-Martínez, E. (2003). Effect of high moisture maize storage on tortilla quality. *Journal of Food Science*, 68, 1878–1881.
- Méndez-Montealvo, G., Sánchez-Rivera, M.M., Paredes-López, O., & Bello-Pérez, L.A. (2006). Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40, 59–63.
- Nagano, T., Tamaki, E., & Funami, T. (2008). Influence of guar gum on granule morphologies and rheological properties of maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 72, 95–101.
- Ovando-Martínez, M., Osorio-Díaz, P., Whitney, K., Bello-Pérez, L.B., & Simsek, S. (2011). Effect of the cooking on physicochemical and starch digestibility properties of two varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different water regimes. *Food Chemistry*, 129, 358–365.
- Paredes-López, O., Maza-Calviño, E.C., González-Castañeda, J., & Montes-Rivera, R. (1988). Physico-chemical and functional properties of common bean (*Phaseolus vulgaris*) starches. *Stärke*, 40, 11–15.
- Paredes-López, O., Schevenin, M.L., Hernández-López, D., & Cárabez-Trejo, A. (1989). Amaranth starch – Isolation and partial characterization. *Stärke – Stärke*, 41, 205–207.
- Pérez-Herrera, P., Esquivel-Esquivel, G., Rosales-Serna, R., & Acosta-Gallegos, J.A. (2002). Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52, 172–180.
- Rodríguez-Sandoval, E., Fernández Quintero, A., & Ayala Aponte, A. (2005). Reología y textura de masas: Aplicaciones en trigo y maíz. *Ingeniería e Investigación*, 25, 72–78.
- Sahai, D., Buendía, M.O., & Jackson, D.S. (2001). Effects of pregelatinization conditions for understanding nixtamalized corn flour: particle size and functionality relationships in the masa flour simple. *Cereal Chemistry*, 78, 14–18.
- Sandoval Aldana, A., Rodríguez Sandoval, E., & Fernández Quintero, A. (2005). Aplicación del análisis por calorimetría diferencial de barrido para la caracterización de las modificaciones térmicas de almidón. *DYNA*, 72, 45–53.
- Serna-Saldivar, S.O., Canett, R., Vargas, J., Gonzales, M., & Bedolla, S. (1988). Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize/dehulled sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chemistry*, 65, 44–48.
- Serna-Saldivar, S.O., & Amaya-Guerra, C.A. (2008). El Papel de la Tortilla Nixtamalizada en la Nutrición y Alimentación. In M. Rodríguez García, S.O. Serna Saldivar, & F. Sanchez Senecio (Eds.), *Nixtamalización del Maíz a la Tortilla: Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos* (pp. 105–151). México: Universidad de Querétaro, Series Ingeniería.
- Rosado, J.L., López, P., Morales, M., Muñoz, G., & Allen, L. (1992). Bioavailability of energy, nitrogen, fat, zinc, iron and calcium from rural and urban Mexican diets. *British Journal of Nutrition*, 68, 45.
- Wannenberger, L. & Eliasson, A.C. (1993). Differential scanning calorimetry studies on rye flour milling streams. *Cereal Chemistry*, 70, 196–198.

## LITERATURA CITADA

- Aguirre Flores, Liliana. 1996. Evaluación de la utilización del amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*) en el proceso de elaboración de tortillas de harina de trigo utilizando 10 niveles de concentración de amaranto. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agronomía, UANL. Marín, N.L., México.
- Abd EI-Hardy EA, Habiba RA. Effect of soaking and extrusion conditions on antinutrients and protein digestibility of legume seeds. *Lebensm-Wiss U- Technol* 2003; 36; 285-293.
- Aberle, T.; Burchard, B. Starches in Semidilute Aqueous Solution. 1997. *Starch*, 49, 215–224.
- Abirami, R.G.; Kowsalya, S. Nutrient and Nutraceutical Potentials of Seaweed Biomass *Ulva lactuca* and *Kappaphycus alvarezii*. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2011 5(1) 109 - 115.
- Agama-Acevedo, E.; Rendón-Villalobos, R.; Tovar, J.; Paredes-López, O.; Islas-Hernández, J.; Bello-Pérez, L. In vitro starch digestibility changes during storage of maize flour tortillas. 2004. *Die Nahrung* 48(1)38-42.
- Agama-Acevedo, E.; Rendón-Villalobos, R.; Tovar, J.; Trejo Estrada S.R.; Bello-Pérez, L. Effect of storage time on in vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas elaborated from commercial corn masas. 2005. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 55: 86-92.
- Aguayo-Rojas J; Mora-Rochín S.; Cuevas-Rodríguez, E.; Serna-Saldivar, S.O.; Gutierrez-Uribe, J.A.; Reyes-Moreno, C.; Milán-Carrillo, J. 2012. Phytochemicals and Antioxidant Capacity of Tortillas Obtained after Lime-Cooking Extrusion Process of Whole Pigmented Mexican Maize. *Plant Foods Hum Nutr.* 67:178–185
- Aguilar, A.; Rojas, R.; Gómez, J.; Franco, A.; Olaiz, G.; Rull, A.; y Sepúlveda, J. 2004. El síndrome metabólico, un concepto en evolución. *Gac Med Méx.* 140: 41-48
- Aguila-Ramírez RN, CJ Hernández-Guerrero, AM Ramírez-Ornelas, A Marín-Álvarez, M Beltrán-López y M Casas-Valdez. 2002. Empleo de las algas marinas *Ulva* spp. y *Enteromorpha* spp. en la elaboración de pan. *Boletín CICIMAR-IPN* N° 90, p. 1.
- Aguila-Ramirez, Ruth N; Casas-Valdez, Margarita; Hernandez-Guerrero, Claudia J y Marin-Alvarez, Alejandro. Biomasa de *Ulva* spp. (Chlorophyta) en tres localidades del malecón de La Paz, Baja California Sur, México. *Rev. biol. mar. oceanogr.* [online]. 2005, vol.40, n.1 [citado 2009-10-22], pp. 55-61
- Aguilera-Morales M, M Casas-Valdez, S Carrillo-Domínguez, B González-Acosta y F Pérez-Gil. 2005. Chemical composition and microbiological assays of marine algae *Enteromorpha* spp. as a potencial food source. *Journal of Food Composition and Analysis* 18(1): 79-88.
- Aleixandre, A.; Miguel, M. Dietary fiber in the prevention and treatment of metabolic syndrome: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2008; 48: 905-12.

- Alexander, M.H., Lazan, K. S., and Rasmussen K.M. 1988. Effect of the chronic protein energy malnutrition on fecundability, fecundity and fertility in rats. *J. Nutr.* 118(7): 883-887.
- Alvaro A, Solá R, Rosales R, Ribalta J, Anguera Masana L et al. Gene expression analysis of a human enterocyte cell line reveals downregulation of cholesterol biosynthesis in response to shortchain fatty acids. *IUBMB Life* 2008; 60: 757-64.
- Amador, L. 1999. Alimentación y nutrición. La tortilla. Portal de la Procuraduría Federal del Consumidor. 13 de junio del 2007. URL; [http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos\\_05/tortillas\\_dic05.pdf](http://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_05/tortillas_dic05.pdf).
- Amaya Guerra, C.A.; Alanis Guzman, M.G.; Serna Saldivar, S.O. Effects of soybean fortification on protein quality of tortilla-based diets produced from regular and quality protein maize. 2004. *Plant Foods for Human Nutrition.* 59(2):45-50.
- Amaya-Guerra, C.; Serna-Saldivar, S.; Alanis-Guzmán, M.G. Soybean fortification and enrichment of regular and quality protein maize tortillas affects brain development and maze performance of rats. 2006. *British Journal of Nutrition.* 96, 161-168.
- Amaya-Guerra, C.A., 2003. Efectos de la Fortificación y Enriquecimiento de Tortillas regulares y de maíz de Alta calidad Proteíca en el Desarrollo Fisiológico, Cerebral y Desempeño en el Aprendizaje de Ratas de Laboratorio. Tesis Doctoral. Fac. de Ciencias Biológicas, UANL. Monterrey, N.L., México.
- Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A et al. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev* 2009; 67: 188-205.
- Anderson, J.W. Dietary fiber, lipids and atherosclerosis. 1987. *The American journal of cardiology.* 60(12):17G-22G.
- Andrieux, C.; Hibert, A.; Houari, A.M.; Bensaada, M.; Popot, F.; Szylit, O. Ulva lactuca is Poorly Fermented but Alters Bacterial Metabolism in Rats Inoculated with Human Faecal Flora from Methane and Non-methane Producers. *J Sci Food Agric* 1998, 77, 25È30.
- Anton A., Fulcher G., Arntfield S. 2008. Physical and nutritional impact of fortification of corn starch-based extruded snacks with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour: Effects of bean addition and extrusion cooking. *Food Chemistry*, 113: 989–996.
- Aparicio-Fernandez X, Garcia-Gasca T, Yousef GG, Lila MA, Mejia EE, Loarca-Pina GF. 2006. Chemopreventive activity of polyphenolics from black jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on HeLa and HaCaT cells. *J Agric Food Chem* 54:2116–22.
- Aparicio-Fernandez X, Yousef GG, Loarca-Pina GF, Mejia EE, Lila MA. 2005. Characterization of polyphenolics in the seed coat of black jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem* 53:4615–22.
- Arámbula, V.G., Figueroa, J.D.C. Martínez-Bustos, F., Ordorica, F.C.A. and González-Hernández, J. 1998. Milling and Processing Parameters for Corn Tortillas from Extruded Instant Dry Masa Flour. *Journal of Food Science.* 63(2): 338-341.

- Arámbula, V.G., González-Hernández, J, Moreno, M.E., and Ordorica, F.C.A. 2002. Characteristics of tortillas prepared from dry extruded masa flour added with maize pericarp. *J. Food Sci.* 67:1444-1448.
- Arrigoni, E., Lu, J, Ramalingam, V, Saper, C. 2009. Long term synaptic plasticity is impaired in rats with lesions of the ventrolateral preoptic nucleus. *European Journal of Neuroscience.* 30(11):2112-2121.
- Ayadi, M.A.; Abdelmaksoud, w.; Ennouri, M.; Attia, H. Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. 2009. *Industrial Crops and Products* 30(1):40-47.
- B.J. XU; S.K.C. CHANG. A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *JFS Journal of Food Science.* 2007. 72(2):S159-S166.
- B.J. XU; S.K.C. CHANG. Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Eclipse Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as Affected by Processing Methods. *Journal of Food Science* 2008. 73(2) H19-H27.
- Badui, S. 1999. *Química de los Alimentos.* Longam de México Editores, S. A de C. V. Pearson Education. México.
- Bang, M.A., Hyeon-A, K., Young-Ja, C. Alterations in the blood glucose, serum lipids and renal oxidative stress rats by supplementation of onion (*Allium cepa*.Linn).2009. *Nutrition Research and Practice.* 3(3):242-246.
- BAOJUN XU, SAM K. C. CHANG. Total Phenolic, Phenolic Acid, Anthocyanin, Flavan-3-ol, and Flavonol Profiles and Antioxidant Properties of Pinto and Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as Affected by Thermal Processing. *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 4754–4764
- Barba de la Rosa. A. P., J. Gueguen, O. Paredes-López and G. Viroben. 1992. "Fractionation procedures, electrophoretic characterization, and amino acid composition of amaranth seed protein," *J. Agric. Food Chem.* 40:93 1-935.
- Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owen JA, Robinson JS (1993) Reviewarticle. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341: 938–941.
- Barrales-Brito, E., González-Herrera, F.P. 2009. Elaboración de harina de nopal (*Opuntia* spp.) para incorporar en productos hechos a base de harina de maíz nixtamalizado. Participante Categoría Única Estudiantil en el Premio Nacional en Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2009.
- Bedolla, S.; Palacios, M.; Rooney, L.; Diehl, K. and Khan, M. 1983. Cooking characteristics of sorghum and corn for tortilla preparation by several cooking methods. *Cereal Chem.* 60 (4): 263 – 268.
- Bejosano, F.P., Joseph, S., López, R.M., Kelekci, N.N., Waniska, R.D. 2005. Rheological and Sensory Evaluation of Wheat Flour Tortillas During Storage. *Cereal Chemistry* 82(3):256-263.

- Beninger CW, Hosfield GL, Bassett MJ. 1999. Flavonol composition of three genotypes of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) differing in seed coat color. *J Am Soc Hortic Sci* 124:514–8.
- Beninger CW, Hosfield GL. 2003. Antioxidant activity extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. Seed coat color genotypes. *J Agri Food Chem* 51:7879–83.
- Biliaderis, C. G., The structure and interactions of starch with food constituents. 1991. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 69,60-78.
- Blanco A, Bressani R. Biodisponibilidad de aminoácidos en el frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Arch Latinoamer Nutr*. 1991;41:38-51.
- Bocanegra A, Bastida S, Benedí J, Nus M, Sánchez-Montero JM, Sánchez-Muniz FJ. Effect of seaweed and cholesterol-enriched diets on postprandial lipoproteinaemia in rats. *Br.J.Nutr.*(2009);102:1728.
- Bocanegra A, Nieto A, Blas B, Sánchez-Muniz FJ. Diets containing a high percentage of Nori or Konbu algae are well-accepted and efficiently utilised by growing rats but induce different degrees of histological changes in the liver and bowel. *Food Chem Toxicol*. 2003 Nov;41(11):1473-80.
- Bomblies, K., R.-L. Wang, B. A. Ambrose, R. J. Schmidt, R. B. Meeley, and J. Doebley. 2003. Duplicate FLORICAULA/LEAFY homologs zfl1 and zfl2 control inflorescence architecture and flower patterning in maize. *Development* 130: 2385-2395.
- Boyer, C.D. y Shannon, J.C. 1987. Carbohydrates of the kernel. En S.A. Watson y P. E. Ramstad, eds. *Corn : chemistry and technology*, p. 253-272. St Paul, Minn., EE.UU., Am. Assoc. Cereal Chem.
- Bressani R, Aguirre A, Scrimshaw NS. All-vegetable protein mixtures for human feeding. II. The nutritive value of corn, sorghum, rice, and buckwheat substituted for lime-treated corn in INCAP vegetable mixture eight. *J Nutr* 1959;69:351–5.
- Bressani R, Elías LG. Seed quality and nutritional goals in pea, lentil, faba beans and chickpea breeding. In: Summerfield RJ, ed. *World groups: Cool season food legumes*. London: Kluwer Academic Publications, 1988: 381–404.
- Bressani R. Composition and nutritional properties of amaranth. In: Paredes-López O, ed. *Amaranth: Biology, chemistry and technology*. Boca Raton Fl. CRC Press, 1994:185–205.
- Bressani R. Nutritional goals for plant breeders with particular reference to food legumes of the ICARDA program. *Interfaces between agriculture, food science and human nutrition in the Middle East*. Aleppo, Syria: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA)/United Nations University, 1982.
- Bressani R. Nutritive value of cowpea. In: Singh SR, Rachie KO, eds. *Cowpea research, production, and utilization*. New York: John Wiley & Sons, 1985:353–9.

- Bressani R. World needs for improved nutrition and the role of vegetable and legumes. Tenth Anniversary Monograph Series. Shanhua, Taiwan, Republic of China: Asian Vegetable Research and Development Center, 1983.
- Bressani, R. 1989. The proteins of grain amaranth. *Food Rev. Int.* 5:13-38
- Bressani, R. 1990a. Chemistry, technology and nutritive value of maize tortillas. *Food Rev. Int.*, 6:225-264.
- Bressani, R., Benavides, V., Acevedo, E., Ortiz, M.A. 1990b. Changes in selected nutrient content and in protein quality of common and quality protein maize during tortilla preparation. *Cereal Chem.* 67(6): 515-518.
- Bressani, R., Breuner, M. y Ortiz, M.A. 1989. Contenido de fibra ácido- y neutrodetergente y de minerales menores en maíz y su tortilla. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 39: 382-391.
- Bressani, R., Elias, L.G., Graham, J.E. 1968. Suplementación con aminoácidos del maíz y de la tortilla. *Arch. Latinoam. Nutr.* 18: 123-134.
- Bressani, R., Mertz, E. T. 1958. Studies on com protein. IV. Protein and amino acid content of different com varieties. *Cereal Chem.*, 35: 227-235.
- Bressani, R. 1962. Effect of amino acid imbalance on nitrogen retention. I. Effect of a relative deficiency of tryptophan in dogs. *J. Nutr.*, 78: 365-370.
- Brown L, Rosner b, Willet W, Sacks F. Cholesterol lowering effects of dietary fiber a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 1999;69:30-42.
- Brownlee IA, Allen A, Pearson JP, et al. Alginate as a source of dietary fiber. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;45:497–510.
- Brümmer, J.M. y G. Morgenstern. 1992. Backeigenschaften der Pseudo-Cerealien Amarant und Quinoa. *Getreide, Mehl u. Bot.* 46 (3): 78-84.
- Burge, R.M. y Duensing, W.J. 1989. Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World* 34: 535-538.
- Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry.* 2(4):498-503.
- Bwititi, P., Musabayane, C. T., & Nhachi, C. F. B. (2000). Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 69, 247–252.
- Campus-Baypoli, O.N., Rosas-Burgos, E.C., Torres-Chavez, P.I., Ramirez-Wong, B., and Serna-Saldívar, S.O. 1999. Physicochemical changes of starch during maize tortilla production. *Starch/Starke* 51 Nr. 5, S. 173-177.
- Cantón, S.; Núñez, Y.; y Uribe, R. 2011. Sobrepeso y obesidad en menores de 20 años de edad en México. *Boletín Medico Hospital Infantil México.* 68(1):79-81
- Cárdenas Medellín, M.A. Efecto de la ingestión de una dieta a base de nopal (*O. ficus – indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteínas y glucosa en sangre de ratas. Tesis de Maestría. ITESM, Campus Monterrey. NL, México.

- Cárdenas-Quintana, H., Gómez-Bravo, C., Díaz-Novoa, J., Camarena-Mayta, F. 2000. Evaluación de la calidad de la proteína de 4 variedades mejoradas de frijol. *rev. Cubana Aliment. Nutr.* 14(1):22-27.
- Carlson W.R. 1988. The cytogenetics of com. En: Com and com improvement. G.F Sprague and J.W. Dudley, eds. *Agronomy Monographs No.18.* American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. 259-344.
- Carrillo-Domínguez S, M Casas-Valdez, F Ramos, F Pérez-Gil & I Sánchez-Rodríguez. 2002. Algas marinas de Baja California Sur, México: Valor nutrimental y perspectivas de aprovechamiento en la alimentación animal. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 52(4): 115-125.
- Casas-Agustench P, López-Uriarte P, Bulló M, Ros E, Cabré-Vila JJ, Salas-Salvadó J. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; Dec 21 (Epub).
- Celikler S, Tas S, Vatan O, Ziyank-Ayvalik S, Yildiz G, Bilaloglu R. Anti-hyperglycemic and antigenotoxic potential of *Ulva rigida* ethanolic extract in the experimental diabetes mellitus. *Food Chem Toxicol.* 2009;47:1837–40
- Chaisawang, M., Supphantharika, M., 2006. Pasting and rheological properties of native and anionic tapioca starches as modified by guar gum and xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 20, 641–649.
- Chang, H.C.; Wu, L.C. Texture and Quality Properties of Chinese Fresh Egg Noodles Formulated with Green Seaweed (*Monostroma nitidum*) Powder. 2008. *Journal of Food Science.* 73(8):S398-S404.
- Chattopadhyay, N.R., Kher, M., Goodbole. 1993. Inexpensive SDS/phenol method for RNA and DNA extraction from tissues. *BioTechniques.* 15:24-25.
- Chaturvedi, A., G. Sarojini y N.L. Devi. 1993. Hypocholesterolemic effect of amaranth seeds (*A. esculentus*). *Plants Foods for Human Nutrition.* 44: 63-70
- Choung, M.-G., Choi, B.-R., An, Y.-N., Chu, Y.-H., & Cho, Y.-S. (2003). Anthocyanin profile of Korean cultivated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry,* 51, 7040–7043.
- Contreras, G., Elias, L.G. & Bressani, R.1981. Efecto de la suplementacion con vitaminas y minerales sobre la utilizacion de la protefna de mezclas de maíz. y frijol. *Arch. Latinoam. Nutr.,* 31: 808826.
- Cortés, A.; San Martín, E.; Martínez, F. y Vázquez, G. 2005. Tortilla of blue maize (*Zea mays* L.) prepared by a fractionated process of nixtamalization: analysis using response surface methodology. *J. of Food Eng.* 66: 273 – 281.
- Cornejo-Villegas, M.A.; Acosta-Osorio, A.A.; Rojas-Molina, I.; Gutiérrez-Cortéz, E.; Quiroga, M.A.; Gaytán, M.; Herrera, G.; Rodríguez-García, M.E. Study of the physicochemical and pasting properties of instant corn flour added with calcium and fibers from nopal powder. 2010. *Journal of Food Engineer.* 96(3):401-409.

- Crozier, A.; Jaganath, I.B.; Clifford, M.N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Nat. prod. Rep.* 2009. 26:1001-1043.
- Cuevas, E.; Verdugo, N.; Angulo, P.; Milán, J.; Mora, R.; Bello L.; Garzón, J. and Reyes, C. 2006. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). *LWT* 39: 1072 – 1079.
- Danz, R., Lupton, J.R. 1992. Physiological effects of dietary fiber of amaranth (*Amaranthus cruentus*) on rats. *Cereal Foods World*. 37:489-495.
- De La Llave, A. 2004. Efecto de la adición de fibra soluble sobre las características fisicoquímicas y sensoriales en un producto de panificación. [Tesis en Licenciatura de Ingeniería de Alimentos]. Cholula, Puebla, México. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Universidad de las Américas Puebla. Zambrano, Z.; de la Luz, M.; Hernández, A.; y Gallardo, Y. 1998. Caracterización fisicoquímica del Nopal. *Temas de Tecnología de alimentos - Fibra dietética*. Instituto Politécnico Nacional, México. 2:29-41.
- Del Valle, F.R. 1972. Industrial production, distribution and marketing of maize flour for tortilla in Mexico. En R. Bressani, J.E. Brabarn, M. Béhar, eds. *Nutritional improvement of maize*. INCAP Pub. L-4. Guatemala, INCAP. 57-83.
- Deschamps, A.I. 1985. Aprovechamiento industrial del maíz en la manufactura de productos alternos a los de panificación originados en el trigo. *Congreso Tecnología Alimentos*, Viña del Mar, Chile.
- Díaz-Batalla, L; Widholm, J.M., Fahey, G.C., Castaño Tostado, E.; Paredes-López, O. 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.* 54, 2045– 2052.
- Doebley, J. F., Goodman, M. M., Stuber, C. W. 1984. Isoenzymatic variation in *Zea* (Gramineae). *Syst. Bot.* 9(2): 203-218.
- Doebley, J., Stec, A., Wendel, J., Edwards, M. 1990. Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proc. Ntl. Acad. Sci.* 87:9888-9892.
- Eastwood, M.A. Vegetable fibre: its physical properties. 1973. *The Proceedings of the Nutrition Society*. 32(3):137-143.
- Elías LG, Bressani R. Valor nutritivo de la proteína de la levadura torula y como complemento de concentrados proteicos. *Arch Latinoam Nutr* 1970;20:135–49.
- Encuesta Nacional de Nutrición (ENSANUT). 2006: Estado nutricional en niños y mujeres en México. Instituto Nacional de Salud Pública. 320p.
- Enríquez, L. M. 2003. Efecto de la adición de cal y cloruro de calcio sobre los parámetros de la calidad de las harinas y tortillas de maíz nixtamalizado. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Estévez, A.M., Escobar, B., Zacarías I., Hurtado M.L. 2003. Evaluación nutricional y almacenamiento acelerado a 37°C de mezcla de frejol y maíz fritos. *ALAN* 53(1):70-73.

- FAOIWHO. 1990. Protein Quality Evaluation Report of the Joint FAOIWHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation., Roma, Italia. FAO Food and Consultation on Protein Quality Evaluation., Roma, Italia. FAO Food and Nutrition Paper Nutrition Paper No. 51.
- Fennema, O. 1982. Introducción a la Ciencia de los Alimentos. Editorial Reverté, S. A. España.
- Fernandez ML. Soluble fiber and nondigestible carbohydrate effects on plasma lipids and cardiovascular risk. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 35-40.
- Fernández, J.; San Martín, E.; Díaz, J.; Calderón, A.; Alvarado, A.; Ortiz, H. and Leal, M. 2006. Steeping time and cooking temperature dependence of calcium ion diffusion during microwave nixtamalization of corn. *J. of Food Eng.* 7: 568 – 572.
- Fernández-Muñoz JL, San Martín-Martínez E, Díaz-Góngora JAI, Calderón A, Ortiz H (2008). Evaluación de las distribuciones de tamaño de partícula de harina de maíz nixtamalizada por medio de RVA. *Superficies y Vacío*, 21(3): 25-30.
- Figueroa Cárdenas, J.D.; Acero Godínez, M.G.; Vasco Méndez, N.L.; Lozano Guzmán, A.; Flores Acosta, L.M.; González-Hernández, J. [Fortification and evaluation of the nixtamal tortillas]. 2001. *Archivos Latinoamericanos De Nutrición* 51(3)293-302.
- Fleuriet, A.; Macheix, J. J. Phenolic acids in fruits and vegetables. In *Flavonoids in Health and Disease*; Rice-Evans, C., Packer, L., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, 2003; pp 1-42.
- Fleury, N., & Lahaye, M. (1991). Chemical and physico-chemical characterization of fibers from *Laminaria digitata*. *Journal of Science Food Agriculture*, 55, 389–400.
- Flores Farías, R.; Bustos Martínez, F.; Salinas Moreno, Y.; Ríos, E. Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. 2002. *Agrociencia* 005:557-567.
- Flores, H. A, Murillo, M., Borrego, F., y Rodríguez, J. L. 1995. Variación de la composición química de estratos de la planta de 20 variedades de nopal. p. 110-115. In: *Memorias. VI Congreso Nacional y IV Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del nopal*. Guadalajara, México.
- Flores-Valdez, C. 2003. Importancia del nopal. pp. 1-18. In: C. A. Flores Valdez, ed. *Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización*. 1ª Ed. Universidad Autónoma Chapingo, CUESTAAM. México.
- Fontanot, M. 1999. Elaboración de galletas de avena con adición de harina de nopal rica en fibra dietética. Tesis para optar al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Santiago.
- Food American Organization (FAO). 2008. Composición del maíz. URL: [www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S03.htm](http://www.fao.org/docrep/t0395s/T0395S03.htm)
- Foster-Powel K, Holt S, Brand-Miller J. International Table of glycemic Index and glycemic load values: 2002. *Am J Clin Nutr* 2002;76:5-56.

- Frati-Munari, A. C., Gordillo, B. E., Altamirano, P., & Araiza, C. R. (1988). Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. *Diabetes Care*, 11, 63.
- Friggers, N.C., Hay, D.E., Oldham, J.D. 1993. Interactions between major nutrients in the diet and the lactation performance of rats. *Br. J. Nutr.* 69(1): 59-71.
- Galati E.M., Mondello R., Giuffrida D., Dugo G., Miceli N., Pergolizzi S., Taviano M.F. 2003. Chemical characterization and biological effects of Sicilian *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Fruit juice: Antioxidant and Antiulcerogenic Activity. *J. Agric. Food Chem.* 51: 4903-4908.
- Galinat, W. C. 1977. The origin of corn. En Sprague, G. F., ed. *Corn and Corn Improvement*. Amer. Soc. Agron. Madison, WI. 1-47.
- García Casal, M.N.; Ramírez, J.; Leets, I.; Pereira, A.C.; Quiroga, M.F. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. 2009. *British Journal of Nutrition*, 101:79-85.
- Goñi I, Gudiel-Urbano M, Bravo L, Saura-Calixto F. Dietary modulation of bacterial fermentative capacity by edible seaweeds in rats. *J Agric Food Chem.* 2001; 49:2663–2668.
- Gopalan, C. y Rao, K.S.J. 1975. Pellagra and amino acid imbalance. *Vitam. Horm.*, 33: 505-528.
- Gorton, L. 1984. Tortilla improvements less fragile, more firm. *Bakers Digest*. Pp. 26.
- Graham, G. G., Lembecke, J., and Morales, E. 1990. Quality protein maize as the sole source of dietary protein and fat for rapidly growing young children. *Pediatrics*. 85(1):85-91.
- Grajales-García, E.M.; Osorio-Díaz, P.; Goñi, I.; Hervert-Hernández, D.; Guzmán-Maldonado, S.H.; Bello-Pérez, L.A. Chemical Composition, Starch Digestibility and Antioxidant Capacity of Tortilla Made with a Blend of Quality Protein Maize and Black Bean. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13, 286-301
- Granados, D. y Castañeda, A. D. 1996. *El Nopal*. 2ª Reimpresión, Ed. Trillas, México.
- Guevara Figueroa, T.; Jiménez-Islas, H.; Reyes-Escogido, M.; Mortensen, A.; Laursen, B.B.; Lin, L-W.; De León-Rodríguez, A.; Fomsgaard, I.; Barba de la Rosa, A. Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). 2010. *Journal of Food Composition and Analysis*. 23(6):525-532.
- Guevara-Arauz, J.C.; Órnelas-Paz, J.J.; Rosales-Mendoza, S.; Soria-Guerra, R.E.; Paz-Maldonado, L.M.T.; Pimentel-González, D.J. 2011. Biofunctional activity of tortillas and bars enhanced with nopal. Preliminary assessment of functional effect after intake on the oxidative status in healthy volunteers. *Chemistry Central Journal*. 5:10.
- Gunasekaran, S. and Altay, F. 2006. Influence of drying temperature, water content, and heating rate on gelatinization of corn starches. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4235-4245.

- Gutiérrez-Urbe, J.A.; García-Lara, S.; Serna-Saldivar, S.O. Búsqueda de Alternativas Para Disminuir la Pérdida de Nutracéuticos Durante la Nixtamalización. Memorias del 4º Congreso Internacional de Nixtamalización. Querétaro, México. 16 - 19 de octubre de 2012.
- Guzmán Maldonado, S.H.; Paredes-López, O. Chapter 9. Functional Products of Plants Indigenous to Latin America: Amaranth, Quinoa, Common Beans, and Botanicals. 1999. 293-328 in: Functional Foods. Biochemical and Processing Aspects. Technomic Publishing.
- Hara H, Haga S, Aoyama Y, Kiriyaama S. Short-chain fatty acids suppress cholesterol synthesis in rat liver and intestine. *J Nutr* 1999; 129: 942-8.
- Hela Yaich, Haikel Garna, Souhail Besbes, Michel Paquot, Christophe Blecker, Hamadi Attia. Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chemistry* 128 (2011) 895–901
- Hernot, D. C., Boileau, T. W., Bauer, L. L., Swanson, K. S. and Fahey, G. C. Jr. 2008. In vitro digestión characteristics of unprocessed and processed whole grains and their components. *J. Agric. Food Chem.* 56, 10721-10726.
- Howarth NC, Saltzman E, McCrory MA, Greenberg AS, Dwyer J, Ausman L et al. Fermentable and nonfermentable fiber supplements did not alter hunger, satiety or body weight in a pilot study of men and women consuming self-selected diets. *J Nutr* 2003; 133: 3141-4.
- Howarth NC, Saltzman E, Roberts SB. Dietary fiber and weight regulation. *Nutr Rev* 2001; 59: 129-39.
- Hsu, C., Yen, G.C., 2008. Phenolic compounds: evidence for inhibitory effects against obesity and their underlying molecular signaling mechanisms. *Molecular Nutrition and Food Research* 53, 53–61.
- Hsu, C.L., Huang, S.L., Yen, G.C., 2006. Inhibitory effect of phenolic acids on proliferation of 3T3-L1 pre-adipocytes in relation to their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 4191–4197.
- Hsu, C.L., Yen, G.C., 2006. Induction of cell apoptosis in 3T3-L1 pre-adipocytes by flavonoids is associated with their antioxidant activity. *Molecular Nutrition and Food Research* 50, 1072–1079.
- Huijbrechts, A.; Desse, M.; Budtova, T.; Franssen, M.; Visser, G.; Boeriu, C. and Sudhölter, E. 2008. Physicochemical properties of etherfied maize starch. *Carbohydrate Polymers*.
- Illescas, R. 1943. La teoría química de la formación del nixtamal. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 4:129.
- Iltis, H. H., Doebley, J. F. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Amer. J. Bot.* 67(6): 994-1004.
- Imeri AG, Elías LG, Bressani R. Amaranth: a technological alternative in child nutrition. *Arch Latinoam Nutr* 1987;37:147–59.

- Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI). 2005. Estadísticas sociodemográficas. Portal 13 de junio del 2007. URL; <http://www.inegi.gob.mx>
- Irving, D.W., A.A. Betschart y R.M. Saunders. 1981. Morphologic studies on *Amaranthus cruentus*. *J. Foods Science* 46: 1170-1173.
- Isely, D., 1990. Leguminosae (Fabaceae). *Vascular Flora of the Southeastern United States*. Vol. 3. The University of North Carolina Press. North Carolina, USA.
- Islas-Hernández, J. J.; Rendón-Villalobos, J.R.; Agama-Acevedo, E.; Tovar, J.; Bello-Pérez, L.A. Chemical composition and in vitro starch digestibility of corn tortillas with added amaranth flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2007 87(12) 2348:2352.
- Jansen, G.R.; Schibly, M.B.; Masor, M.; Sampson, D.A.; Longenecker, J.B. Free Amino Acid Levels during Lactation in Rats: Effects of Protein Quality and Protein Quantity. 1986 *The Journal of Nutrition*. 116:376 - 387.
- Jaramillo-Flores M.E.; González-Cruz, L.; Cornejomazon, M.; Dorantes-Alvarez, L.; Gutiérrez-Lopez, G.F.; Hernández-Sánchez, H. 2003. Effect of thermal treatment on the antioxidant activity and content of carotenoids and phenolic compounds of cactus pear cladodes (*Opuntia ficus-indica*). *Food Sci. Technol. Int.* 9, 271–277.
- Jiménez-Escrig A, Jiménez-Jiménez I, Pulido R & Saura-Calixto F (2001) Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *J Sci Food Agric* 81, 530–534.
- Kamp, R.M. 1991. High-sensitivity amino acid analysis using high performance liquid chromatography and precolumn derivatization. *LC-GC. Intl.* 4:40-46.
- Khan, M. Des Rosiers, M.; Ronney, L. Morgan, R. and Sweat, V. 1982. Corn tortillas: evaluation of corn cooking procedures. *Cereal Chem.* 59 (4): 279–284.
- Kirsten R, Heintz B, Nelson K, Hesse K, Schneider E. Oremek G, nemeth N. Polyenlylphosphatidinecholine improves the lipoprotein profile in diabetic patients. *Int J Clínica] Pharm Therapeutics* 1993;32:53-56.
- Koeppe OJ, Henderson LM (1955) Níacin-tryptophan deficiency resulting from imbalances in amino acid diets. *J. Nutr.* 55:23-33.
- Koh-Banerjee P, Rimm EB. Whole grain consumption and weight gain: a review of the epidemiological evidence, potential mechanisms and opportunities for future research. *Proc Nutr Soc* 2003; 62: 25-9.
- Kunyanga CN, Imungi JK, Okoth MW, Biesalski HK, Vadivel V. 2012. Total phenolic content, antioxidant and antidiabetic properties of methanolic extract of raw and traditionally processed Kenyan indigenous food ingredients. *LWT—Food Sci Technol* 45 (2012):269–76.
- Lahaye, M. & D. Jegou, 1993. Chemical and physical-chemical characteristics of dietary fibres from *Ulva lactuca* (L.) Thuret and *Enteromorpha compressa* (L.) Grev. *J. appl. Phycol.* 5 : 195- 200.
- Landry, J. y Moureaux, T. 1982. Distribution and amino acid composition of protein fractions in opaque-2 maize grain. *Phytochemistry*. 21: 11365- 1869.

- Laria, J.; Meza, E.; Mondragón, M.; Silva, R. and Peña, J. 2005. Comparison of overall water uptake by corn kernel with and without dissolved calcium hydroxide at room temperature. *J. of Food Eng.* 67: 451- 456.
- Lecareux, C. 2008. The effect of a patented cactus fibre on blood lipid parameters, risk factors for Syndrome X (Metabolic Syndrome). *Agro Food Industry Hi-Tech* 19(2) Suppl: 30-32.
- Lecuona-Villanueva, A.; Betancur-Ancona, D.A.; Chel-Guerrero, L.A.; Castellanos-Ruelas, A.F. Protein Fortification of Corn Tortillas: Effects on Physicochemical Characteristics, Nutritional Value and Acceptance. *Food and Nutrition Sciences*, 2012, 3, 1658-1663.
- Lee, E.H., Hyoun, J.K., Song, Y.S., Changbae, J., Kyung-Tae, L., Cho, J., Lee, Y.S., 2003. Constituents of the stems and fruits of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. *Archives Pharmaceutical Research* 26, 1018–1023.
- Liese AD, Schultz M, Fang F, Wolever TM, D’Agostino RB, Sparks KC et al. Dietary glycemic index and glycemic load, carbohydrate and fiber intake, and measures of insulin sensitivity, secretion, and adiposity in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2005; 28: 2832-8.
- Lin, Long-Ze; Harnly, James M.; Pastor-Corrales, Marcial S.; Luthria, Devanand L. The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). 2008. *Food Chemistry* 107(1):399-410.
- Lobban C and Harrison P. *Seaweeds ecology and Physiology*. Cambridge Press University, England. 1994;366 pp.
- Lobeira, R.; Almeida, H. and Ronney L. (1998). Methods to evaluate hydration and mixing properties of nixtamalized corn flours. *Cereal Chem.* 75 (4): 417 – 420.
- López, G. J. J. 1977. Descripción y transformación del ecosistema *Opuntia streptacantha* Lemaire. Tesis de M.C. Depto. Ciencia Animal. UAAAN. Saltillo México.
- Lopez-Martinez, L.X.; Oliart-Ros, R.M.; Valerio-Alfaro, G.; Lee, C.-H.; Parkin, K.L.; Garcia, H.S. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT Food Sci. Technol.* 2009, 42, 1187–1192.
- Ludwig DS, Pereira MA, Kroenke CH, Hilner JE, Van Horn L, Slattery ML et al. Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults. *JAMA* 1999; 282: 1539-46.
- Mabeau, S., & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: Biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 4, 103–107.
- MacArtain, P.; Gill, C.; Brooks, M.; Campbell, R.; Rowland, I.R.; Nutritional Value of Edible Seaweeds. 2007. *Nutrition Reviews*. 65(12):535-543.
- Macz-Pop, G. A., González-Parama’s, A. M., Pérez-Alonso, J. J., & Rivas-Gonzalo, J. C. (2006). New flavanol anthocyanin condensed pigments and anthocyanin composition in Guatemalan beans (*Phaseolus* sp.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 536–542.

- Mamatha, B.S.; Namitha, K.K.; Senthil, Amudha; Smitha, J.; Ravishankar, G.A. Studies on use of Enteromorpha in snack food. 2007. Food Chemistry. 101(4):1707-1713.
- Manzano, M.R., Rosales, G.E., 1989. Aprovechamiento de las algas marinas *Macrocystis pyrifera* y *Sargassum sinicola* en la alimentación. Tesis Profesional. Escuela de Química Universidad La Salle, México, D.F. 109p.
- Marcotte, M., Taherian, H., & Ramaswamy, H. (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. Food Research International, 34, 695-703.
- Martínez Flores, H.E.; Gaytán Martínez, M.; Figueroa Cárdenas J.D.; Martínez Bustos, F.; Reyes Vega, M.L; Rodríguez Vidal, A. Effect of some preservatives on shelf-life of corn tortillas obtained from extruded masa. 2004. Agrociencia 003:285-292.
- Martínez, F.; Martínez, H.; Sanmartín, E.; Sánchez, F.; Chang, Y.; Barrera, D. and Ríos, E. 2001. Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalization process. J. of the Science of Food and Agric. 81: 1455–1462.
- McConn M., Nakata A. 2004. Oxalate reduces calcium availability in the pads of prickly pear cactus through formation of calcium oxalate crystals. J. Agric. Food Chem. 52, 1371-1374.
- Meenakshi, S.; Manicka Gnanambigai, D.; Tamil mozhi, S.; Arumugam, M. Balasubramanian, T. Total Flavanoid and in vitro Antioxidant Activity of Two Seaweeds of Rameshwaram Coast. Global Journal of Pharmacology, 3 (2): 59-62, 2009
- Mendez, G.; Sánchez, M.; Paredes O.; and Bello, L. 2006. Thermal and rheological properties of nixtamalized maize starch. International J. of Biological Macromolecules. 40: 59–63.
- Mendoza MC, Bressani R. Nutritional and functional characteristics of extrusion-cooked amaranth flour. Cereal Chem 1987; 64:218–22.
- Medina-Torres, L.; Vernon-Carter, J.; Gallegos-Infante, J.A.; Rocha-Guzman, N.E.; Herrera-Valencia, C.E.E.; Calderasa, F.; Jiménez-Alvarado, R. Study of the antioxidant properties of extracts obtained from nopal cactus (*Opuntia ficus-indica*) cladodes after convective drying 2011. J. Sci. Food Agric 91:1001-1005.
- Miranda-Lopez, R. 1999. Effect of some anti-staling additives, pH and storage on the staling of corn tortillas. Ph.D. dissertation, Texas A&M University: College Station, TX.
- Mondragón, M.; Bello, L.; Agama, E.; Melo, A.; Betancur, D. and Peña, J. 2004. Effect of nixtamalization on the modification of the crystalline structure of maize starch. Carbohydrate Polymers 55: 411–418.
- Morales, E.; Lembcke, J.; Graham, G.G. Nutritional value for young children of grain amaranth and maize-amaranth mixtures: effect of processing. 1988. The Journal of Nutrition. 118(1):78-85.

- Morris, M.L., 1998. Overview of the world maize economy. En: *Maize Seed Industries in Developing Countries*. M.L: Morris eds. Lynne Rienner Publishers, Inc. y CIMMYT. 13 - 34.
- Morris, R.G.M. 1981. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*. 12:239-260.
- Muñoz de Chávez, M., Chávez, A. 1997. El impacto del maíz fortificado con proteínas y micronutrientes en una comunidad rural. Informe Técnico Anual. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Tlalpán, D.F., México.
- Muñoz de Chávez, M., Chávez, A., Valles, V. y Roldán, J. A. 1995. The nopal: a plant of manifold qualities. *World Rev. Nutr. Diet*. 77:109-134.
- Muñoz de Chávez, M., Roldán, J.A., Hernández-Cordero, S.L. 1996. Valor Nutritivo de los alimentos de Mayor consumo en Mexico. Edición Internacional. Versión Digital.
- Navarrete, D.A. & Bressani, R. 1981. Protein digestibility and protein quality of common beans (*Phaseolus vulgaris*) fed alone and with maize, in adult humans using a short-term nitrogen balance assay. *Am. J. Clin. Nutr.*, 34: 1893- 1898.
- Neldner KH (1988) Diseases of the skin. Ch. 22 In: *Clínica! Nutritión*. D.M. Paige, ed. Second Edition. The C. V. Mosby Co., St. Louis MI.
- Nelson, C, Silverstein, F.S. 1994. Acute disruption of cytochrome oxidase activity in brain in a perinatal rat stroke model. *Pediatr. Res*. 36:12-19.
- Noor MI, Gómez-Brenes RG, Bressani R, Elías LG. The complementation effects on dietary protein of ungerminated and germinated mung bean (*Phaseolus aureus*) with rice. *Arch Latinoam Nutr* 1984;34:366-75.
- NORMA Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.
- Olaiz, G.; Rivera, J.; Shamah, T.; Rojas, R.; Villalpando, S.; Hernández, M.; y Sepúlveda, J. 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- OMS. 1995. El estado físico: uso e interpretación de la antropometría. Infor.me de un Comité de Expertos de la OMS. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, (OMS, Serie de Informes Técnicos No 854).
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia, 1993. El maíz en la nutrición humana. Colección FAO: Alimentación y nutrición, N°25
- Ortega, F.I., Villegas, E., Vasal, S.K. 1986. A comparative study of protein changes in normal and quality protein maize during tortilla making. *Cereal Chem*. 63: 446-451.
- Ortiz, J.; Romero, N.; Robert, P.; Araya, J.; Lopez-Hernández, J.; Bozzo, C.; Navarrete, E.; Osorio, A.; Ríos, A. Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. 2006. *Food Chemistry* 99 (1):98-104.

- Pacheco-Ruiz I, JA Zertuche-González, A Chee-Barragán y E Arroyo-Ortega. 2002. Biomass and potential commercial utilization of *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Ulvaceae) beds along the North West coast of the Gulf of California. *Phycologia* 41(2): 199-201.
- Papanikolaou Y, Fulgoni VL 3rd. Bean consumption is associated with greater nutrient intake, reduced systolic blood pressure, lower body weight, and a smaller waist circumference in adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *J Am Coll Nutr* 2008; 27: 569-76.
- Paredes-López, O., Guzmán-Maldonado, H; Orodrica-Falomir, C. 1994. Food proteins from emerging seed sources. *New and Developing Sources of Food Proteins*. Hudson, B.J.F. London, UK. Chapman y Hall. pp 241-279.
- Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Folta M, Zachwieja S. 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chem* 115:994-8
- Patterson, J.I., Brown, R.R., Linkswiler, H. y Harper, A.E. 1980, Excretion of tryptophan- niacin metabolites by young men: effects of tryptophan, leucina and vitamin B6 intakes. *Am. J. Clin. Nutr*: 33: 2157-2167.
- Pedrero, D., Pangborn R.M. 1997. Evaluación sensorial de los alimentos. 3º Edición. Editorial Alhambra Mexicana: 103-107
- Peña, M. y Bacallao J. (2000), “La obesidad y condicionamientos económicos, socioculturales y ambientales” en: Organización Panamericana de la Salud. La obesidad en la pobreza: un nuevo reto para la salud, Washington, OPS.
- Peña-Rodríguez, A.; Mawhinneyb, T.P.; Ricque-Marie, D.; Cruz-Suárez, L.E. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. 2011. *Food Chemistry* 129(2) 491-498.
- Percival E, McDowell RH (1967) *Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides*. Academic Press, London, 219 pp.
- Pérez-Herrera, P., Esquivel-Esquivel, G., Rosales-Serna, R., Acosta-Gallegos, J.A. 2002. Caracterización física, culinaria y nutricional de frijol del altiplano subhúmedo de México. *ALAN*. 52(2):172-180
- Periago, M.J., Ros, G., López, G., Martínez, M. C., y Rincón, F. 1993. The dietary fiber components and their physiological effects. *Revta. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment*. 33 (3): 229- 246.
- Petean Trindade, Cleíde Enoir; de Nóbrega, Fernando José; de Souza Queiróz Tonete, Suzana; Aiello Sartor, Maria Eneida; Curi, Paulo Roberto. Effects of Intrauterine Malnutrition on Brain Free Amino Acids of Young Rats, After Nutritional Recovery During Lactation Period. 1984. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 3(5):795-800.
- Pimienta, E. 1990 *El nopal tunero*. Universidad de Guadalajara, México.
- Pinedad-Rodríguez, S. 2009. Elaboración, evaluación nutrimental y nutracéutica de mezclas de harinas extrudidas maíz/frijol, trigo/frijol y tostadas. Tesis de maestría. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

- Prasard VVTS (1991) Maternal protein deficiency in rat: Effects on central nervous system gangliosides and their catabolizing enzymes in the offspring. *Lipids* 26: 553–556.
- Preciado, R.E. y Montes, H. 2011. Amplitud, mejoramiento, usos y riesgos de la diversidad genética de maíz en México. S Montes H (eds). 1ª ed. pag. 84-85.
- Priego, M. 2007. Obtención de Fibra Dietética a Partir de Sáculos de Naranja aplicando un Tratamiento con Vapor. [Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos]. Huajuapán de León. Universidad Tecnológica de la Mixteca.
- Psotová, J., Chlopciková, S., Miletová, P., Hrá, J., Simánek, V., 2004. Chemoprotective effect of plant phenolics against anthracycline-induced toxicity on rat cardiomyocytes. Part II. Apigenin, baicalein, kaempferol, luteolin and quercetin. *Phytotherapy Research* 18, 516–521.
- Qi H, Zhang Q, Zhao T, Hu R, Zhang K & Li Z (2006) In vitro antioxidant activity of acetylated and benzoylated derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Bioorg Med Chem Lett* 16, 2441–2445.
- Queiroz YS, Soares RAM, Capriles VD, Torres EAFD, Areas JAG. 2009. Effect of processing on the antioxidant activity of amaranth grain. *Arch Latinoam Nutr* 59:419–24.
- Quemener, B.; Lahaye, M.; Bobin-Dubigeon, C. *Journal of Applied Physics*. 1997, 9, 179-188.
- Quintero-Fuentes, X, McDonough, C.M., Rooney, L.W. and Almeida-Dominguez, H. 1999. Functionality of rice and sorghum flours in baked tortilla and corn chips. *Cereal Chem*. 76: 705-710.
- Ramírez-Moreno, E.; Córdoba-Díaz, D.; Sánchez-Mata, M.C. Diez-Marqués, C.; Goñi, I. Effect of boiling on nutritional, antioxidant and physicochemical characteristics in cladodes (*Opuntia ficus indica*). *LWT - Food Science and Technology*, 2013. Volume 51, Issue 1, Pages 296–302
- Rasmussen, K.M. 1988. Effects of under and overnutrition on lactation on laboratory rats. *J. Nutr.* 128: 390S-393S.
- Rayas-Duarte, P., C.M. Mock y L.D. Satterlee. 1996. Quality of spaghetti containing buckwheat, amaranth and lupin flours. *Cereal Chemistry* 73 (3): 381-387.
- Reyes-Moreno. C. and O. Paredes-López. 1993. "Hard-to-cook phenomenon in common beans-a review," *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 33:227-286.
- Reyes-Sánchez, Rosalía. 2008. Efecto de los polifenoles y de la fibra dietética del frijol sobre los niveles de los lípidos séricos. Tesis de Maestría. FCB, UANL.
- Robertson, K.R. 1981. The General of Amarantaceae in the south eastern United States. *Journal of The Arnold Arboretum* 62 (3): 267-314.
- Robic, A.; Rondeau-Mouro, C.; Sassi, J.F.; Lerat, Y. and Lahaye, M. (2009), Structure and interactions of ulvan in the cell wall of the marine green algae *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyta). *Carbohydr. Polym.*, 77, 206-216.

- Rodríguez Méndez Lilia Irene, Figueroa Cárdenas Juan de Dios. Capacidad Antioxidante, Fenoles y Antocianinas en Harina y Tortilla Elaboradas con un Proceso de Nixtamalización Ecológica. Memorias del 4° Congreso Internacional de Nixtamalización. Querétaro, México. 16 - 19 de octubre de 2012.
- Román-Brito, J.A., Agama-Acevedo, E., Méndez-Montealvo, G., Bello-Pérez.L.A. 2007. Textural Studies of Stored Corn Tortillas with Added Xanthan Gum. *Cereal Chemistry* 84(5):502-505.
- Romani, A., Vignolini, P., Galardi, C., Mulinacci, N., Benedettelli, S., & Heimier, D. (2004). Germplasm characterization of Zolfino landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) by flavonoid content. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 3838–3842.
- Ross, S.E., Hemati, N., Longo, K.A., Bennett, C.N., Lucas, P.C., Erickson, R.L., MacDougald, O.A., 2000. Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling. *Science* 289, 950-953.
- Ruales, J. y Zumba, J. 1998. Cuantificación y caracterización de fibra dietética en frutas y hortalizas ecuatorianas. pp. 55-59. In: Lajolo F. M. y Wenzel de Menezes, E. eds. *Temas en Tecnología de alimentos. Vol. 2. Fibra Dietética*. CYTED. Dirección de Publicaciones y Materiales Educativos, Instituto Politécnico Nacional. México.
- Sáenz, C. 2004. Compuestos funcionales y alimentos derivados de *Opuntia* spp. p. 211-222. In: Esparza, G., Valdez, R. y Méndez, S. eds. *El Nopal, Tópicos de actualidad*. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Sáenz, C., Arriagada, S., Fizsman, S. y Calvo, C. 1997c. Influence of pH and contents of carrageenan during the storage of cactus pear gels. *Acta Hort* 438 : 131-134.
- Sáenz, C., Sepúlveda, E., Pak, N. y Vallejos, X. 2002b. Uso de fibra dietética de nopal en la formulación de un polvo para flan. *Arch. Latinoam. Nutr.* 52 (4): 387-392.
- Sakanashi, T.M., Brigham, HE., Rasmussen, K.M. 1987. Effect of the dietary restriction during lactation on cardiac output, organ blood flow and organ weights of rats. *J. Nutr.* 117(8): 1469-1474.
- San Vicente, E. (1996). Efecto de las condiciones de nixtamalización sobre las características reológicas y sensoriales de nixtamal, masa y tortilla. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos.
- Sánchez, B. 2005. Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra dietética del fruto del níspero (*Eriobotrya japonica*) y de la cáscara de mango obo (*Mangifera indica* L.). Tesis. Instituto de Agroindustrias, Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León, Oaxaca, México.
- Sandberg A, Andersson H, Boscoeus I, Carlsson NG, Hasselbad K, Harrod M. Alginate, small bowel sterol excretion and absorption of nutrients in ileostomy subjects. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60:751–756.
- Sanderson, J., Wall, J. S., Donaldson, G.L., Cavins, J.F. 1978. Effect of alkaline processing of corn on its amino acids. *Cereal Chem.* 55: 204-213.

- Santos-Zea, L.; Gutierrez-Urbe, J.A.; Serna-Saldivar, S.O. Comparative Analyses of Total Phenols, Antioxidant Activity, and Flavonol Glycoside Profile of Cladode Flours from Different Varieties of *Opuntia* spp. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 7054–7061
- Sarwar, G. (1997) The protein digestibility-corrected amino acid score method overestimates quality of proteins containing antinutritional factors and of poorly digestible proteins supplemented with limiting amino acids in rats. *J. Nutr.* 127: 758–764.
- Sarwar, G.; Peace, R.W. Comparisons between true digestibility of total nitrogen and limiting amino acids in vegetable proteins fed to rats. 1986. *The Journal of Nutrition.* 116(7):1172-1184.
- Sathe, S.K. Dry Bean Protein Functionality. 2002. *Critical Reviews in Biotechnology* 22 (2): 175-223.
- Saura-Calixto, F.; Serrano, J.; Goñi, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chem.* 2007, 101, 492–501.
- Sáyago-Ayerdi S.G., Tovar J., Osorio-Díaz P., Paredes-López O., Bello- Pérez L.A. (2005): In vitro starch digestibility and predicted glycemic index of corn tortilla, black beans and tortilla-bean mixture, effect of coldstorage. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 53:1281–1285.
- Scazzina, F., Del Río, D., Serventi, L., Carini, E., Vittadini, E. 2008. Development of nutritionally enhanced tortillas. *Food Biophysics.* 3:235-240.
- Schmidt-Hebbel, H., Pennacchiotti, I. Masson, L. y Mella, M. A. 1990. Tabla de composición química de alimentos chilenos. (8ª Ed). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Santiago.
- Secretaría de Desarrollo Social. SEDESOL. 2008. Nutrición y Pobreza. Política Pública Basada en Evidencia. 188p.
- Serna-Saldivar, S.O., Knabe, D.A, Rooney, L.W., Tanksley, T.D. Jr., Sproule, A.M. 1988a. Nutritional value of sorghum and maize tortillas. *J. Cereal. Sci.* 7: 83-94.
- Serna Saldivar SO, Knabe DA, Rooney LW, Tanksley TD (1987) Effects of lime cooking on energy and protein digestibilities of maize and sorghum. *Cereal Chem.* 64(4):247-252.
- Serna Saldivar SO, Knabe DA, Rooney LW, Tanksley TD (1987) Effects of lime cooking on energy and protein digestibilities of maize and sorghum. *Cereal Chem.* 64(4):247-252.
- Serna Saldivar, S. O., Canett, R., Vargas, J., Gonzalez M., Bedolla, S. 1988b. Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chem.* 65(1 ): 44-48.
- Serna Saldivar, S.O., Knabe, D.A, Rooney, L.W., Tanksley, T.D. 1987. Effect of lime cooking on energy and protein digestibility of maize and sorghum. *Cereal Chem.* 64(4): 247-252.

- Serna, S.; Gómez, M.; Almeida, H.; Islas, A. and Rooney, L. 1993. A method to evaluate the lime cooking properties of corn (*Zea mays*). *Cereal Chem.* 70 (6): 762 – 764.
- Serna-Saldivar, S. O., Amaya-Guerra, C.A. Nixtamalización del Maíz a la Tortilla: Aspectos Nutrimientales y Toxicológicos. El Papel de la Tortilla Nixtamalizada en la Nutrición y Alimentación. Universidad de Queretaro, Series Ingeniería. México. 2008. Rodríguez García, M., Serna Saldivar, S.O. y Sanchez Senecio, F . pp: 105-151.
- Serna-Saldivar, S. O., Gomez, M.H., Rooney, L.W. 1990. Technology, Chemistry, and Nutritional Value of Alkaline- Cooked Corn Products. Cap. 4. En: *Advances in Cereal Sci. &Technology.* Vol. X., Y. Pomeranz, ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul,MN.
- Serna-Saldivar, S.O. 1998. Evaluación de la calidad protéica nutrimental de dos harinas mixtamalizadas (regular y fortificada) mediante bioensayos con ratas de laboratorio. Reporte de asesoría. Grupo Industrial Maseca, S.A. Monterrey, N.L., México. Reporte de asesoría. Grupo Industrial Maseca, S.A. Monterrey, N.L., Mexico.
- Serna-Saldivar, S.O., Gomez, M.H., Rooney, L.W. 1990. Technology, chemistry and nutritional value of alkaline-cooked corn products. Cap. 4. En: *Advances in Cereal Sci. y Technology.* Vol. X., Y. Pomeranz, ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Serna-Saldivar, S.O., Rooney, L.W., Greene, L.W. 1991. Effect of lime treatment on the availability of calcium in diets of tortillas and beans: Rat growth and metabolic studies. *Cereal Chem.* 68: 565-570.
- Serrano. J., Goñi, I. 2004. Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutrición de la población guatemalteca. *ALAN* 54(1): 36-46.
- Singh, N., Qumar, A, Ghai, O. 1976. Conduction velocities of motor nerves of children suffering from protein calorie malnutrition and marasmus. *Electromyography Clin. Neurophys.* 16:382-392.
- Singh, N.; Inouchi, N. and Nishinari, K. 2006. Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. *Food Hydrocolloids* 20: 923 – 935.
- Spiller, G. 1992. Definition of dietary fiber. pp. 15-18. In: *Dietary Fiber in Human Nutrition.* Ed. by Gene A. Spiller. CRC Handbook. 2nd Ed. Boca Ratón, Florida, Estados Unidos de América.
- Sproule, A.M., Serna-Saldivar, S.O., Bockholt, A.J., Rooney, L.W., Knabe, DA 1988. Nutritional evaluation of tortillas and tortilla chips from Quality Protein Maize. *Cereal Foods World*\_ 33(2): 233-236.
- Srinivasan, M., Sudheer, A.R., Menon, V.P., 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of Clinical and Biochemical Nutrition* 40, 92–100.

- Stylianopoulos C, Serna-Saldivar SO, Arteaga G (2002) Effects of fortification and enrichment of maize tortillas on growth and brain development of rats throughout two generations. *Cereal Chem* 79:85–91.
- Sudzuki, F. 1999. Anatomía y morfología. pp. 29-36. In: Barbera, G., Inglese, P. y Pimienta, E., eds. *Agroecología, cultivo y usos del nopal*. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 132. Roma.
- Suhendro, E.; Almeida, H.; Rooney, L. and Waniska, R. 1998. Objective Rollability method for corn tortilla texture measurement. *Cereal Chem.* 75 (3): 320 - 324.
- Suhendro, E.L. 1997. Instrumental methods for the evaluation of corn tortilla texture. Ph.D dissertation. Texas A&M University: College Station, TX.
- Sumar, K.L. 1993. *La kiwicha y su cultivo*. Centro Bartolomé de las Casas. Cusco, Perú.
- Sunda W, Kiebert D, Kene R & Huntsman S (2002) An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae. *Nature* 418, 317.
- Suryavanshi, V.L., Sathe, P.A., Baing, M.M., Singh, G.R., Lakshmi, S.N., 2007. Determination of Rutin in *Amaranthus spinosus* Linn. Whole Plant Powder by HPTLC. *Chromatography* 65, 767–769.
- Sustain, 1997. Fortification of corn masa flour with iron and/or other nutrients. A literature and industry experience review. US Agency of International Development: Washington, D.C.
- Taboada, C., Millán, R., & Míguez, I. (2009). Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae *Ulva rigida*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 445–449.
- Taboada, C.; Millán, T.; Míguez, I. Composition, nutritional aspects and effect on serum parameters of marine algae *Ulva rigida*. 2010. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90(3):445-449.
- Takeoka, G. R., Dao, L. T., Full, G. H., Wong, R. Y., Harden, L. A., Edwards, R. H., et al. (1997). Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 45, 3395–3400.
- Tapia, M. 1997. *Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación*. 2a Edición. FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile.
- Tegegne, F. 2002. Fodder potential of *Opuntia ficus-indica*. *Acta Hort.* 581: 343-345.
- Theuwsen E, Mensink RP. Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiol Behav* 2008; 94: 285-92.
- Tobar J. Bioavailability of Starch in processed legumes. Importance of physical inaccessibility and retrogradation. Tesis Doctoral, Universidad de Lund, Suecia. 1992.
- Tonella, M.; Sánchez, M. y Salazar, M. 1983. Physical, Chemical, nutritional and sensory properties of corn-based fortified food products. *J. Of Food Science* 48: 1637–1643.

- Torun B, Menchú M, Elias L. Recomendaciones dietéticas diarias del INCAP. INCAP MPI057, Guatemala. 1 37pp. 1996.
- Tovar, S.; Zazueta, A.; Iniesta, B. and Durán, C. 2004. Viscoamylographic Studies on Zea Mays [Mexican White tuxpeño maize] partial gelatinization with calcium hydroxide. *J. Starch* 526 - 534.
- Trejo, A.; Feria, A. and Wild, C. 1982. The role of lime in the alkaline treatment of corn for tortilla preparation. *American Chemical Society* 9: 245 – 263.
- Trejo-González, A., Gabril-Ortiz, G., Puebla-Pérez, A. M., Huizar-Contreras, M. D., Munguía-Mazariegos, M. del R., Mejía-Arreguín, S. y Calva, E. 1996. A Purified Extract From Prickly Pear Cactus (*Opuntia fuliginosa*) Controls Experimentally Induced Diabetes in Rats. *J. Ethnopharmacol.* 55:27-33.
- Turner, M.R. Perinatal mortality, growth and survival to weaning in offspring of rats reared on diets moderately deficient in protein. 1973. *British Journal of Nutrition.* 29:139-147.
- Urbani, P.; Ramunno, A.; Filosa, R.; Pinto, A.; Popolo, A.; Bianchino, E.; Piotto, S.; Saturnino, C.; De Prisco, R.; Nicolaus, B.; Tommonaro, G. Antioxidant activity of diphenylpropionamide derivatives: synthesis, biological evaluation and computational analysis. 2008. *Molecules* 13, 749-761.
- Urbano, M. G., & Goni, I. (2002). Bioavailability of nutrient in rats fed on edible seaweed, Nori (*Porphyra tenera*) Wakame (*Undaria pinnatifida*), as a source of dietary fiber. *Food Chemistry*, 76, 281–286.
- USDA. 1982. Handbook #8. Composition of Food. USDA.
- Vázquez-Carillo, M.G., Guzmán-Báez, L., Andrés-García, J.L., Márquez-Sánchez, F., Castillo-Merino, J. 2003. Calidad de grano y tortilla de maíces criollos y sus retrocruzas. *Fitogenética.* 26(4): 231-238.
- Villegas y de Gante, M. 1997. Los Nopales (*Opuntia* spp.) recursos y símbolos tradicionales en México. pp. 271-273. In: Memorias. VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.
- Vivas, N.; Waniska, R. and Ronney, L. 1987. Effect of tortilla production on proteins in sorghum and maize. *Cereal Chem.* 64 (6): 384 – 389. 105
- Vos AP, M'Rabet L, Stahl B, Boehm G, Garssen J. Immune-modulatory effects and potential working mechanisms of orally applied nondigestible carbohydrates. *Crit Rev Immunol* 2007; 27: 97-140.
- Watson, S.A. 1987. Structure and composition. En S.A. Watson y P.E. Ramstad. eds. *Corn: chemistry and technology*, p. 53-82. St Paul, EE.UU., Am. Assoc. Cereal Chem.
- Weickert MO, Pfeiffer AF. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr* 2008; 138: 439-42.
- White P. J., Xing Y. 1997. Antioxidants from cereals and legumes. In: Shahidi F, editor. *Natural antioxidants, chemistry, health effects, and applications*. Champaign, Ill.: AOCS Press. p 25–63.

- Wilson, C. M. 1987. Proteins of the kernel. In: corn chemistry and Tech. Watson, S. A. and Ramstand P.E (eds) Amer. Ass. General chem. USA pp273
- Wisker, E.; Feldheim, W. Effects of various methods on the determination of dietary fiber and available carbohydrates on the calculation of the energy content of bread. 1985. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung. 179(4):333-340.
- Wolf, M.J., Buzan, C.L., MacMasters, M.M., Rist, C.E. 1952. Structure of the mature corn kernel. Cereal Chem. 29: 321-382.
- Wong, K. H., & Cheung, P. C. K. (2000). Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds: Part I – proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. Food Chemistry, 71(4), 475–482.
- Wyld MK, Squibb RL, Scrimshaw NS. Buckwheat as a supplement to all-vegetable protein diets. Food Res 1958; 23:407–10.
- Yeggy, H.A. 2000. Effect of hydrocolloids and protein on corn tortilla staling. M.S. Thesis, Texas A&M University, College Station, TX.
- Young CM, Rasmussen KM (1985) Effects of varying degrees of chronic dietary restriction in rat dams on reproductive and lactational performance and body composition in dams and their pups. AmJ Clin Nutr 41: 979–987.
- Yu, P.Z., X.G. Liu, G.F. Zhou, Q.B. Zhang and P.C. Li, 2003. Anti hyperlipidemic effects of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertuse* (chlorophyta ). Pharmacological Res., 48: 543-549.
- Yuan Y & Walsh N (2006) Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. Food Chem Toxicol 44, 1144–1150.
- Zaghi S, Bressani R. Uso de recursos alimenticios centroamericanos para el fomento de la industria animal. II. Composición química de la semilla y de la harina de torta de ajonjolí (*Sesamum indicum*). Turrialba 1969;19:34–8.
- Zambrano, M. L., Hernández, A. D. y Gallardo, Y. 1998. Caracterización fisicoquímica del nopal. p. 29-42. In: M. Lajolo y E. Wenzel de Menezes, eds. Temas en Tecnología de Alimentos. Vol. 2. Fibra Dietética. F. CYTED. Dirección de Publicaciones y Materiales Educativos, Instituto Politécnico Nacional. México.
- Zambrano, Z.; de la Luz, M.; Hernández, A.; y Gallardo, Y. 1998. Caracterización fisicoquímica del Nopal. Temas de Tecnología de alimentos - Fibra dietética. Instituto Politécnico Nacional, México. 2:29-41.
- Zemcke-White, W.L., Ohno, M. 1999. World seaweed utilization: An end-of-century summary. Journal of Applied Phycology. 11(4):369-376.
- Zhang Q, Yu P, Li Z, Zhang H, Xu Z, Li P (2003) Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanesis* . J Appl Phycol 15:305 – 310