



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

CONTENIDO DE FIBRA DIETÉTICA Y ALMIDÓN
RESISTENTE EN CEREALES, LEGUMINOSAS Y
TUBÉRCULOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A :
OFELIA EDITH CARREÓN RODRÍGUEZ



MÉXICO, D. F.

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

2005

m341773



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO


Presidente ANGELA SOTELO LOPEZ
Vocal BERNARDO LUCAS FLORENTINO
Secretario LUZ SANDRA SÁNCHEZ DEL ANGEL
1er. Suplente ROSA MARIA ARGOTE ESPINOSA
2do. Suplente CARLOS ALBERTO ALMANZA RODRÍGUEZ

Sitio donde se elaboró:


Laboratorio 111, Conjunto E, Departamento de Farmacia, Facultad de Química, UNAM



Asesor
M. en C. Angela Sotelo López



Sustentante
Ofelia Edith Carreón Rodríguez

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.
NOMBRE: Ofelia Edith Carreón Rodríguez
FECHA: = 03 Marzo 2005 =
FIRMA: 

INDICE

I RESUMEN	6
II INTRODUCCIÓN	8
III ANTECEDENTES	15
1. CLASIFICACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS	15
2. FIBRA DIETÉTICA	18
2.1 Definiciones de la fibra dietética	20
2.2 División de la fibra dietética	21
2.3 Propiedades funcionales	25
2.4 Efectos fisiológicos y metabólicos en el colon humano	29
2.5 Efecto de la fibra sobre absorción de nutrientes	32
2.6 Procedimientos analíticos	34
2.7 Estudios sobre el efecto de cocción en la fibra dietética	39
3. ALMIDÓN	42
3.1 Estructura química del almidón	46
3.1.1 Amilosa	46
3.1.1.1 Clasificación	46
3.1.1.2 Caracterización analítica	47
3.1.2 Amilopectina	47
3.1.2.1 Fraccionamiento de la molécula	47
3.1.2.2 Estudios relacionados sobre la estructura	47
3.2 Cambios en el almidón (Tratamientos Químicos)	49
3.2.1 Gelatinización	49
3.2.2 Gelación	54
3.2.3 Retrogradación	55
3.3 Almidón Resistente	55
3.3.1 Procedimientos analíticos	55
3.3.2 Investigaciones sobre el efecto de cocción	57

IV OBJETIVOS	60
A. OBJETIVO GENERAL	60
B. OBJETIVOS PARTICULARES	60
V HIPÓTESIS	62
VI ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	63
VII MUESTRAS Y METODOLOGÍAS	66
A. MATERIAS PRIMAS	66
1. Arroz	66
2. Maíz	66
3. Frijol	66
4. Garbanzo	66
5. Papa	66
6. Camote	66
B. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	66
1. Arroz	66
2. Maíz	67
3. Frijol	67
4. Garbanzo	68
5. Papa	68
6. Camote	69
C. ANÁLISIS PRÓXIMAL	70
1. Determinación de humedad	70
2. Determinación de cenizas	71
3. Determinación de proteína cruda	72
4. Determinación de grasa cruda	77
5. Determinación de fibra cruda	78
D. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS	81
1. Determinación de fibra dietética	81
1.1 Fundamento	81
1.2 Material y reactivos	81
1.3 Instrucciones de preparación de los reactivos	83

1.4 Procedimiento -----	85
1.5 Cálculos -----	87
2. Determinación de almidón resistente -----	87
2.1 Fundamento -----	87
2.2 Material y reactivos -----	88
2.3 Instrucciones de preparación de los reactivos -----	89
2.4 Procedimiento -----	90
2.5 Cálculos -----	92
E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO -----	93
VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----	94
IX CONCLUSIÓN -----	109
X BIBLIOGRAFÍA -----	110



A mi padre (Q. E. P. D.)
Lic. Alfonso Carreón Alva

IN MEMORIAM

Agradezco a mi padre por darme el don de vivir,
por enseñarme que el continuo esfuerzo
es la base del éxito, pero sobre todo
la satisfacción del recorrido
andado para el logro de éste.

A mi madre
Lic. Ma. Ofelia Rodríguez Molina

Por la dedicación incondicional en todos
mis logros, por sus desvelos,
por ser mi mejor amiga,
por corregir mis errores,
pero sobre todo por su amor.

A mi hermano
M. en C. Alfonso Carreón Rodríguez

Por sus consejos, sus enseñanzas,
y señalarme el camino para alcanzar
las metas trazadas.

A mi hermano
Lic. Fernando Carreón Rodríguez

Por apoyarme a lo largo de mi
carrera, como lo hubiera hecho mi
padre, por tu constante atención
a mí persona tan desinteresadamente.



A mi hermano
Alfredo Carreón Rodríguez

Por ser mi amigo, mi compañero de juegos y travesuras, a quién me une un intenso amor fraternal, y sobre todo por ser la razón principal de terminar esta carrera.

A mi cuñada
Mtra. Sara Morales Flores

Por su afecto y trato como una hermana, por sus consejos y continua preocupación por mi bienestar.

A mi cuñada
M. C. Mónica Viviana Martínez Martínez

Por sus atenciones y especial afecto que siempre me ha demostrado.

A mi cuñada
Claudia Rodríguez Cornejo

Por su amistad y afecto.



A mis sobrinos
Sara Fernanda Carreón Morales
Jacqueline Viviane Carreón Martínez
Claudia Andrea Carreón Martínez
Patricio Carreón Rodríguez

Por su ternura,
por su inocencia,
por la alegría de la
cual soy contagiada

A mi maestra
M. en C. Angela Sotelo López

Por permitirme la elaboración
de este proyecto
y por su guía en el mismo,
hasta lograr la meta.

A mi maestra
M. en C. Rosa María Argote Espinosa

Por su especial alegría, por el
continuo apoyo en mi trabajo
para lograr mi objetivo.

A la señora Vicky

Por ser el pilar para todos
los alumnos que cruzan por
su camino en el laboratorio,
pero sobre todo por
su alegría musical .

AGRADECIMIENTOS



A Lety,
a el Prof. Bernardo,
y a todos los integrantes del laboratorio.

A Laura Leal Reyes

Por ser una buena compañera,
y una excelente amiga.

A Felipe Martín Tovar

Por compartir los buenos y
malos momentos que pase
en la facultad, por su cariño,
comprensión y apoyo,
por ser un excelente amigo.

A mis Maestros

A mi Facultad

Por ser mi segundo hogar



A mi Universidad

Por ser mi alma mater

A México

Por ser la patria que me vio nacer

A mis amigos



I RESUMEN

Dos variedades de cereales, dos de leguminosas y dos de tubérculos (crudos y cocidos) fueron evaluados, realizándoles un análisis proximal y métodos bioquímicos. (enzimáticos – gravimétricos y enzimáticos-espectrofotométricos)

Los cereales utilizados fueron maíz y arroz (extra largo), las leguminosas, frijol negro y garbanzo, y los tubérculos utilizados fueron papa y camote.

Las fuentes cocidas de maíz fueron: nixtamal, masa y tortilla; las cuales se obtuvieron del mismo lote de los granos de maíz de un establecimiento de tortillas. Mientras que las muestras cocidas de frijol, garbanzo y arroz se obtuvieron del cocimiento de estas por autoclave, el cual asemeja el método tradicional de las amas de casa utilizando “olla express”. También los tubérculos fueron cocidos por el método convencional.

Los valores de proteína, grasa, carbohidratos, fibra y cenizas de las muestras crudas son diferentes ($\alpha = 0.01$) a los observados en las muestras cocidas.

Al aplicar el método 985.29 enzimático-gravimétrico de la AOAC (1995) (usando la modificación realizada por Almanzan & Zhou (1995), en la concentración de etanol que se utiliza para la precipitación de la fibra dietética total) tanto en las muestras crudas como cocidas, se observa que los valores de FDT (fibra dietética total) son significativamente diferentes ($\alpha = 0.05$), siendo mayor el contenido de FDT en las muestras cocidas, excepto en el camote, donde la diferencia del contenido de FDT entre la muestra cruda y cocida no es significativo y el valor en la papa cruda es mayor ($8.45\% \pm 0.53$ b.s.) que el de la papa cocida ($6.54\% \pm 0.50$ b. s.) existiendo una diferencia significativa.



El método de Saura-Calixto et al (1993), aplicado para la determinación de almidón resistente, en las muestras antes mencionadas, muestra un aumento significativo ($\alpha = 0.05$) en la cantidad de almidón resistente para las muestras cocidas, excepto en los valores de papa, donde se observa una disminución significativa ($\alpha = 0.05$) de $0.15\% \pm 0.02$ b.s. para la muestra cruda a $0.05\% \pm 0.01$ b. s. para la muestra cocida.

Como era de esperarse los valores de fibra cruda son muy diferentes a los valores de fibra dietética obtenidos por el método enzimático – gravimétrico, siendo estos últimos mayores a los primeros, por otro lado los valores de fibra cruda en las muestras crudas fueron mayores que en las cocidas excepto en el maíz, donde su valor es menor que el observado para las muestras cocidas (nixtamal, masa y tortilla).

Por los resultados obtenidos se puede ver que tanto el valor de fibra dietética como de almidón resistente, varía según el tipo de almidón que tienen los alimentos estudiados.



II INTRODUCCIÓN

El papel de la fibra dietética en la nutrición y salud humana en años recientes se ha convertido en un tema importante, debido no solamente por la función de promover el movimiento intestinal, sino que ahora se ha enfocado el estudio a sus posibles efectos preventivos contra enfermedades crónicas; personas que consumen cantidades requeridas de la llamada ahora “fibra dietética” observan disminución en los problemas de presión (Brand, et al. 1990; Kritchevsky 1982; Schneeman, 1987), además de intervenir en la vía de síntesis del colesterol endógeno, ayudar a reducir los ataques cardíacos y prevención en cáncer de colon. (Roehring 1990; Burkitt et al, 1974).

La migración de las personas de zonas rurales a zonas urbanas, trae consigo cambios en los hábitos alimenticios, estos cambios drásticos de costumbres alimenticias pueden provocar enfermedades, algunos de los ejemplos en las costumbres de las zonas urbanas son: utilización de la tecnología (uso del microondas), comer fuera de casa o la preparación en ésta utilizando alimentos industrializados, que no necesariamente son malos, pero que muchas veces no se obtienen todos los nutrimentos necesarios para mantener el equilibrio en el cuerpo.

La correlación entre los patrones de dieta y enfermedad pueden deberse al reemplazo de alimentos vegetales crudos por alimentos refinados.

La fibra dietética induce efectos fisiológicos que dependen de las propiedades físicas y químicas de sus componentes individuales, algunos de los efectos son: incremento en la masa fecal, reducción de los niveles de colesterol del plasma, disminución de la disponibilidad de nutrientes y reducción de la respuesta glicémica.



Existen muchas definiciones que han sido postuladas por numerosos autores, sin embargo todavía no hay un consenso en el ámbito internacional. Dentro de las definiciones aceptadas se encuentra la siguiente: La fibra dietética es la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre con una fermentación parcial en el intestino grueso. Esto incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancia vegetales asociadas. (AACC 2001)

La Fibra dietética total por la solubilidad de sus componentes en agua se divide en:

1. Fibra dietética soluble (FDS), que incluye pectinas (polisacárido de ácido galacturónico), gomas (carbohidratos complejos muy hidrofílicos) y polisacáridos de algas (polisacáridos complejos que pueden formar geles).
2. Fibra dietética insoluble (FDI), que incluye celulosa (polisacárido de glucosa con enlaces $\beta - (1,4)$), hemicelulosa (polisacárido heterogéneo con cadenas laterales) y lignina (de estructura tridimensional; compuesta de alcohol sinapílico, alcohol coniférico y alcohol p-cumárico),

pero también puede ser dividida en tres grandes grupos de acuerdo a la posición que ocupan en la estructura del vegetal donde se encuentren:

1. Polisacáridos estructurales.- Asociados a la pared celular e incluye celulosa, hemicelulosa y otras pectinas.
2. No polisacáridos estructurales.- Fundamentalmente lignina.



3. Polisacáridos no estructurales.- Incluyen gomas, mucilagos, carragenatos y agar de algas.

Autores, como Schneeman (1986), clasifica químicamente los componentes y Saura (Bello, 2003), toma en cuenta los almidones resistentes a las amilasas digestivas.

Los métodos de análisis de la fibra dietética en general son los siguientes:

- a) *Gravimétricos*, son más sencillos y rápidos.
- b) *Enzimáticos – Gravimétricos*, presenta mayor similitud con lo que sucede en el tracto gastrointestinal, pero es un procedimiento más costoso. Sin embargo el método oficial de la AOAC 1995 utiliza la técnica enzimático – gravimétrico propuesto por Prosky, et al. 1988. Este método; sin embargo, presenta algunos errores e imprecisiones, Mañas & Saura-Calixto, 1993; Mañas et al.,1994, en sus investigaciones resumieron las fuentes de error en los siguientes puntos:
 - Los tratamientos enzimáticos se efectúan a temperaturas de 60° C y 100° C, por lo tanto son muy diferentes a las fisiológicas, afectando los valores de fibra soluble e insoluble.
 - El empleo de estas temperaturas impide el conocimiento de los valores de fibra en los alimentos tal y como se consumen, ya que la metodología emplea alimentos secados, molidos y hervidos, provocando modificaciones en su estructura.
 - Los tratamientos a 100° C con amilasa termoestable tienen el objetivo de eliminar todo el almidón que se encuentra en la muestra, sin embargo siempre queda una parte de almidón resistente en los residuos de fibra insoluble, por



esta razón se tiene que realizar la corrección final (conociendo el valor de almidón resistente) en el valor de la FDI y de la fibra dietética total.

- Cuando se realiza la precipitación con etanol 95% pueden co-precipitar diversos constituyentes de los alimentos diferentes a la fibra y por otra parte una fracción de fibra soluble puede que no precipite. En los residuos de fibra pueden existir otros compuestos que no sean fibra, mientras que en el sobrenadante se pueden perder pectinas, gomas.
 - El método de la AOAC se ha desarrollado exclusivamente para alimentos ricos en almidón y su aplicación en frutas presenta problemas y errores.
- c) *Análisis de los componentes*, proporciona la cantidad de cada uno de los monosacáridos neutros y la cantidad total de azúcares ácidos (ácidos urónicos), posteriormente se calcula el contenido total de fibras sumando estos datos. Se puede estimar si se desea por separado la lignina y añadida a la suma de los azúcares individuales. Sin embargo este análisis exige mayor experiencia y un equipo más costoso, como es un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC).

El almidón fue considerado como hidrato de carbono disponible y fácilmente absorbible, sin embargo ahora se conoce que una pequeña fracción es fermentable en el intestino grueso por la microflora llamada “almidón resistente a hidrólisis” o simplemente “almidón resistente”. (Asp, 1992) Esta fracción resistente a su vez se subdivide en tres tipos de almidón. La clasificación de almidón resistente fue propuesta por Englyst, Kingman & Cumming (1992); la cual está basada en la naturaleza del almidón:



1. *AR1*, almidón físicamente inaccesible, atrapado en la matriz celular, ejemplo: el contenido en semillas de leguminosas (Tovar, Björck & Asp 1992a).

2. *AR2*, son los gránulos nativos del almidón, cuya cristalinidad le confiere baja susceptibilidad a hidrólisis. Ejemplo: almidón papa cruda o de plátano. (Englyst & Cummings, 1987)

3. *AR3*, fracciones de almidón retrógrado, el cual es formado en alimentos previamente cocinados y posteriormente puestos a temperaturas de refrigeración. (Noah, et al. 1998)

Ya que este es un componente novedoso, se han desarrollado hasta entonces numerosas investigaciones que abarcan el estudio tanto analítico como fisiológico; puesto que, a esta fracción le atribuyen propiedades beneficiosas a la salud, sin embargo su evaluación analítica hasta el momento sigue siendo un problema por resolver, no obteniéndose la estandarización deseada, debido a que hay metodologías que cuantifican solamente un tipo de almidón resistente.

Para la cuantificación de almidón resistente existen metodologías que evalúan solamente la fracción retrograda (almidón de tipo 3), como el método de Saura-Calixto et al (1993), utilizado en este estudio, partiendo de los residuos de FDI y cuantificando el almidón como glucosa libre, después de una digestión con KOH y posterior hidrólisis con la enzima amiloglucosidasa. Otras que cuantifican los residuos tanto retrogradados como nativos, por ejemplo: el método de Goñi et al (1996) en donde las temperaturas son menores y se alargan los tiempos de incubación, cuantificándolo igualmente, como glucosa. El método de Englyst (Tovar, 2001); Muir & O'Dea (1992); Akerberg et al (1998), cuantifica el almidón resistente total.



Los cereales, leguminosas y tubérculos son algunos de los alimentos que se encuentran dentro de la dieta del ser humano, en donde sus principales componentes son: proteínas, hidratos de carbono y fibra dietética.

Estos alimentos comúnmente no se consumen crudos, por lo que al cocerlos sufren cambios en su composición tanto física, química y estructural de los componentes, principalmente los de la fibra y del almidón que en este trabajo son estudiados. Diversos investigadores se han encargado del conocimiento de estos cambios, utilizando los métodos analíticos tales como los gravimétricos, enzimáticos – gravimétricos y enzimáticos – espectrofotométricos; los dos últimos métodos utilizan enzimas para el rompimiento del almidón y proteína, sin embargo la diferencia radica en su cuantificación, el primero mide el contenido del componente en estudio a través del peso de este y el enzimático-espectrofotométrico lo hace a través de la medición de absorción de la reacción colorimétrica que se ha generado.

En los últimos años se han realizado investigaciones de fibra cruda e hidratos de carbono, pero con métodos que no se asemejan a lo que ocurre en el tracto digestivo de animales monogástricos principalmente el hombre, por lo tanto los resultados expuestos en tablas no indican realmente lo que proporciona el alimento, sin embargo a través del estudio de la fibra con el método enzimático – gravimétrico nos acercamos más hacia valores reales, además de corregir este valor con el porcentaje obtenido de almidón resistente.

El presente estudio aclara si el proceso de cocción convencional modifica el contenido de fibra dietética total y el almidón resistente, al ser determinados por un método enzimático-gravimétrico y enzimático-espectrofotométrico respectivamente, comparando muestras crudas



con cocidas y así concluir si el proceso afecta la digestibilidad del alimento a través del aumento o disminución de estos componentes; puesto que estos no son hidrolizados por las enzimas digestivas y por lo tanto no absorbidos en el tracto gastrointestinal, su aumento, disminuirá (en el caso de almidón) los componentes digeribles.



II ANTECEDENTES.

Los carbohidratos de los alimentos están constituidos por mono-, di-, oligo-, y polisacáridos provenientes del almidón y polisacáridos que no provienen del almidón (PNA.)

Basándose en el aporte nutricional los carbohidratos se clasifican en digeribles y no digeribles, los primeros son digeridos y absorbidos en el intestino delgado, mientras que los segundos son fermentados por la microflora que se encuentra presente en el intestino grueso. A la fibra dietética se le asigna el término de carbohidrato "no disponible". Los efectos nutricionales de la fibra dietética están basados en su relación de no-digestibilidad en el intestino delgado y sus propiedades físicas, químicas de los polisacáridos que la constituyen. Este efecto de no-digestibilidad en el intestino delgado puede contribuir, fisiológicamente, a presentar modificaciones en el metabolismo, como disminución del índice glicémico (respuesta de glucosa en sangre después de la comida).

1. CLASIFICACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS

En un estudio realizado por Asp (1996) propuso una clasificación química (**Cuadro 1**) y fisiológica (**Figura 1**) de estos carbohidratos, con el objetivo de un mejor entendimiento en cuanto al aporte nutricional (digestibilidad y no-digestibilidad).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Cuadro 1. Clasificación Química de los carbohidratos según Asp. (Asp, 1996)

	Monómeros	Digestibilidad	
MONOSACÁRIDOS			
Glucosa		+	
Fructosa		+ ¹	
Galactosa		+	
DISACÁRIDOS			
Sacarosa	Glucosa, fructosa	+ ²	
Lactosa	Glucosa, galactosa	+ ²	
OLIGOSACARIDOS			
α - galactosidos, ejem. rafinosa	{ Galactosa Glucosa Fructosa	-	
Fructooligosacaridos	Fructosa, glucosa	-	
Maltooligosacáridos	Glucosa	+	
POLISACÁRIDOS			
Almidón (amilosa/amilopeptina)	} Glucosa	+	
Almidón modificado		(-) ³	
POLISACARIDOS NO-ALMIDÓN			
Celulosa	} Glucosa Galactosa Glucosa Manosa Arabinosa Xilosa Ramnosa Ácido urónico		
Hemicelulosa			
Pectinas			
β - glucanos			-
Gomas			
Mucílagos			
Polisacáridos de algas			
Fuctanos	Fructosa		
"NUEVOS" CARBOHIDRATOS			
Inulina	Fructosa	-	
Polidextrosa	Glucosa	-	
Poliolios	Alcoholes derivados de azúcares	(+) (-)	
Pirodextrinas	Glucosa	-	

¹Limite en algunos individuos cuando la ingesta es en lugar de glucosa.²Excepto en deficiencia de disacaridasas.³ Almidón resistente no-digerible.

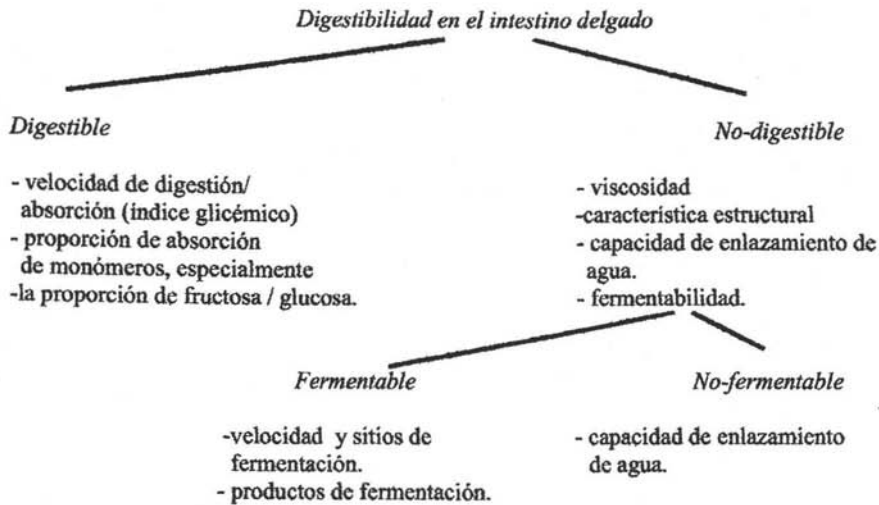


Figura 1. Clasificación Fisiológica de los carbohidratos según Asp. (Asp, 1996)

Las siguientes propiedades de los carbohidratos son de principal importancia en los efectos nutricionales según Asp (1996).

1. La magnitud de absorción en el intestino delgado determina la proporción del carbohidrato que provee sustrato al cuerpo, y sustrato para la fermentación.
2. La velocidad de absorción en el intestino delgado, determina la glucosa en sangre (índice glicémico.)
3. La relativa proporción de monómeros absorbidos especialmente fructosa / glucosa; la fructosa es metabolizada diferentemente e independiente de insulina.



4. La magnitud y velocidad de la fermentación colónica y la naturaleza y proporción de los productos de fermentación. Los principales productos de fermentación son ácidos grasos de cadena corta, acetato, propionato y butirato. Todos contribuyen a la baja del pH en el intestino grueso, disminuyendo la solubilidad de productos co-carcinogénicos. El butirato presenta un efecto específico como principal fuente de energía para las células epiteliales, con propiedades preventivas de tumores. El propionato y acetato se absorben en el colon, sus efectos son los de interceder en el metabolismo de los lípidos y muy probablemente en el de los carbohidratos.
5. La magnitud y velocidad de fermentación por bacterias de la placa dental. Tanto el azúcar como el almidón pueden ser fermentados en la placa dental, obteniendo como resultado una baja en el pH y por eso en el potencial carcinogénico.

2. FIBRA DIETÉTICA

La fibra dietética fue ampliamente ignorada por los nutricionistas hasta mediados de los años 70, ya que se pensaba que su función solamente era la de actuar como laxante, en donde sus componentes serían excretados por el colón sin ser degradados.



El interés por el consumo de fibra ha sido estimulado por numerosos investigadores epidemiológicos, relacionando la ausencia de fibra en la dieta con las enfermedades crónicas como son: estreñimiento, diverticulitis, cáncer de colon.

La fibra dietética induce efectos fisiológicos que dependen de las propiedades físicas y químicas de sus componentes individuales, estos efectos incluyen el incremento de la masa fecal, reducción de los niveles de colesterol del plasma (Keys, 1961), reducción de la respuesta glicémica. (Tovar, 1992)

La migración de zonas rurales a zonas urbanas provoca cambios en las costumbres alimenticias, aumentando la incidencia de estas enfermedades, disminuyendo el consumo de frutas y verduras intercambiado por alimentos refinados. Diversas instituciones y organizaciones internacionales de la salud han recomendado el aumento en la cantidad de fibra en la dieta habitual y disminuir el consumo de grasas.

Un análisis de las encuestas nacionales realizadas entre 1960 y 1990 en México, mostraron una reducción en el consumo de fibra dietética del 25% y al mismo tiempo un aumento en el consumo de grasa total. (Chávez et al, 1992) Encuestas de alimentación realizadas en el medio urbano, el consumo *per capita* de fibra en 1995 fue de 14 ± 6.7 g / día en comparación con 22 ± 10.9 g / día en el medio rural. (ENAL, 89; ENURBAL 95.)



2.1 DEFINICIONES DE LA FIBRA DIETÉTICA

La definición dada por Trowell en 1972, poseía una amplia aceptación ya que involucraba aspectos botánicos, fisiológicos y químicos, pero pronto se hizo necesaria una definición de trabajo en un contexto analítico.

Posteriormente y debido a las diversas investigaciones se generaron nuevas definiciones proporcionadas por varios autores, sin embargo aún no hay un consenso en el ámbito internacional para la definición exacta de lo que es la fibra dietética. Entre las definiciones que se aceptan se encuentran las siguientes:

- a) Trowell (1976) redefinió el concepto, siendo el siguiente: la fibra dietética consiste de los componentes endógenos de la planta en la dieta los cuales son resistentes a la digestión por humanos.
- b) Son derivados de la pared de células vegetales, que contienen polisacáridos no incluyendo la lignina, que no son hidrolizados por las enzimas digestivas, que sirven de sustrato a la flora bacteriana en el intestino grueso del hombre. (Cumming & Englyst 1987)
- c) Diversos carbohidratos vegetales, incluyendo las pectinas, que resisten la hidrólisis de las enzimas digestivas del hombre pero que al menos pueden ser parcialmente hidrolizadas por las enzimas de la microflora intestinal del hombre, con la producción de hidrógeno, metano, dióxido de carbono y algunos ácidos grasos volátiles de cadena corta. (Bello, 2003)



- d) La Fibra Dietaria la parte comestible de las plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado del hombre con una fermentación parcial en el intestino grueso. Esta incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. (AACC, 2003)

2.2 DIVISIÓN DE LA FIBRA DIETÉTICA

La Fibra Dietética es dividida en tres grandes componentes: (Fennema, 1988)

Polisacáridos estructurales: asociados con la pared celular e incluye celulosa, hemicelulosa y pectinas.

- a) *Pectinas.* Las pectinas comerciales son galacturónicos [poli(ácidos α -D.galactopiranosilurónicos)] con contenidos variables de grupos metiléster. Las pectinas nativas que se encuentran en las paredes celulares y en los espacios intercelulares de todas las plantas terrestres son moléculas más complejas, que se convierten en los productos comerciales por extracción con ácidos. Algunos grupos carboxilo a lo largo de la cadena de ácido galacturónico están esterificados con metanol. Según el grado de esterificación, las pectinas se clasifican como pectinas de **alto metoxilo** o de **bajo metoxilo**. La pectina es hidrofílica debido al gran número de grupos hidroxilo polares y grupos carboxilo cargados en la molécula.
- b) *Celulosa.* Es un componente esencial de todas las paredes celulares de las plantas. Es un polímero constituido por al menos 3000 moléculas de glucosa presentando enlaces glicosídicos β - (1,4). Las cadenas de celulosa se pueden mantener unidas en haces formando fibras.



- c) *Hemicelulosa*. Es un grupo heterogéneo que contiene varios azúcares en su estructura principal y cadenas laterales solubles en álcali diluido, exhibe un amplio rango de solubilidades.

No polisacáridos estructurales: fundamentalmente lignina

- a) *Lignina purificada*: De estructura tridimensional, altamente compleja, se considera bastante inerte, insoluble y resistente a la digestión. Compuesta por alcohol sinapílico, alcohol coniférico y alcohol p-cumárico.

Polisacáridos no estructurales: incluyen gomas, mucilagos, carragenatos y agar de algas.

- a) *Alginatos*. Son polímeros lineales que pueden formar geles en presencia de iones calcio.
- b) *Agares y Carragenatos*. Son polisacáridos más complejos, pero ambos pueden formar geles. El carragenato se presenta en varias fracciones, algunas de las cuales gelifican y otras no.
- c) *Gomas*. Son un grupo de carbohidratos complejos que son muy hidrofílicos. Están constituidos por miles de unidades de monosacáridos, enlazados por uniones glicosídicas. La galactosa es el azúcar que se encuentra más comúnmente en las gomas: habitualmente no contienen glucosa. Las gomas se clasifican como fibra soluble. Ejemplos:

Goma guar. Es el polisacárido del endospermo de la semilla de *Cyamopsis tetragonolobus* de la familia de las leguminosas. Es un galactomanano formado por un



esqueleto básico de unidades de (1-4)- β -D-manopiranosilo, con unidades de (1-6)- α -D-galactopiranosilo cada dos de ellas. El polímero es relativamente grande, con un peso molecular de alrededor de 220 000 Dalton. Se hidrata rápidamente en agua fría que dará lugar a una solución altamente viscosa. La presencia de goma guar en el intestino parece retardar la digestión y la absorción de carbohidratos y hace más lenta la absorción de glucosa en el torrente sanguíneo.

Goma de algarrobo. Galactomanano de semillas, procede de las semillas *Ceratonía siliqua*. Está constituida por un esqueleto de unidades D- manopiranosilo, con unidades laterales D- galactopiranosilo, en una proporción 4:1. Pero las unidades de D-galactopiranosilo no se encuentran distribuidas uniformemente, existiendo largas porciones de la cadena de manano totalmente desprovistas de ellas, esto le profiere propiedades sinérgicas

Goma de Karaya. Es un exudado del árbol indico *Sterculia urens*. Sus unidades son D-galactosa, L-ramnosa, ácido D-galacturónico y ácido L-glucurónico. Los azúcares están parcialmente acetilados. La molécula consta de tres cadenas principales que son polímeros de diferentes unidades disacáridicas. Las cadenas principales son portadoras de cadenas laterales y se unen también covalentemente por cadenas laterales. Debido a este fuerte entrecruzamiento, el polímero es insoluble en agua y es resistente a enzimas y microorganismos.



Algunos autores tienen su forma de clasificar los componentes de la fibra, Schneeman (1986), clasifica los componentes de la fibra según el cuadro 2 mientras que Saura (Bello, 2003), toma en cuenta los almidones resistentes a las amilasas digestivas y otros compuestos, como se puede observar en el cuadro 3.

Cuadro 2. Clasificación de la fibra según Scheeman (Scheeman, 1986)

Macromoléculas	Cadena principal	Cadena lateral
POLISACÁRIDOS		
Celulosa	Glucosa	Glucosa ausente
Hemicelulosa	Xilosa	Arabinosa Galactosa Ac. Glucurónico
	Manosa	
	Galactosa	
	Glucosa	
Pectinas	Ac. galacturónico	Ramnosa Arabinosa Xilosa, Fucosa
Mucilagos	Galactosa-manosa	Galactosa
	Glucosa-manosa	
	Arabinosa-xilosa	
	Ac. Galacturónico- ramnosa - manosa -xilosa	
Polisacáridos de algas	Ac. Glucurónico	Galactosa
	Glucosa	
	Galactosa	
Gomas	Ac. Glucurónico-manosa	Xilosa Fucosa Galactosa
	Ac. Galacturónico - ramnosa	
Lignina	Alcohol sinápilico	Estructura Tri-dimensional
	Alcohol coniférico	
	Alcohol p-cumarílico	



Cuadro 3. Clasificación de los componentes de la fibra dietética según Saura. (Bello, 2003)

Fibra alimentaria o Fibra dietética	<i>Componentes estructurales de la pared celular</i>	Celulosa Hemicelulosa Sustancia pectínicas Lignina
	<i>Componentes no estructurales de la pared celular</i>	Pectinas Gomas Mucílagos Polisacáridos de algas Celulosa modificada
	<i>Otros</i>	Almidón resistente Proteína resistente Compuestos de Maillard Taninos condensados

Los componentes de la fracción de fibra dietética por su solubilidad en agua se clasifican de la siguiente forma:

Fibra soluble. Pectinas, gomas, mucílagos y algunos polisacáridos. Las propiedades viscosas que exhiben estas fibras en solución, se relacionan con la lenta digestión del almidón y absorción de glucosa.

Fibra insoluble. Celulosa, hemicelulosa (Olson et al, 1987 la clasifica como fibra soluble) y lignina.

2.3 PROPIEDADES FUNCIONALES

La acción fisiológica de la fibra dietética depende preponderantemente de algunas propiedades fisicoquímicas, las cuales no se relacionan directamente o de manera simple con su composición química, por lo tanto, el sólo análisis químico de la fibra dietética no es un buen indicador de su comportamiento fisiológico.



Las siguientes características físicas inciden en la respuesta fisiológica de la fibra dietética:

a) Retención de agua

La capacidad de retener agua, es la habilidad de la fibra dietética de atrapar agua dentro de su matriz y se debe a numerosos grupos polares libres de sus azúcares constituyentes. A mayor retención de agua, mayor solubilidad y capacidad de volverse viscosas dentro del estomago. Debido a esta habilidad incrementa el peso de las heces tanto húmedo como seco, sin embargo la determinación *in vitro* de esta propiedad no predice directamente su efecto sobre la masa fecal, pues debe considerarse que esta va a variar por efectos de la fermentación microbiana de la fibra dietética.

Otro efecto de la fibra dietética asociado a esta capacidad sería su acción sobre la movilidad intestinal, fibras con alta retención de agua puede incrementar el volumen gastrointestinal, el cual es uno de los factores que controlan la movilidad gastrointestinal. (Edwards, C. 1990)

b) Viscosidad.

Las fibras solubles son las pectinas, gomas y β -glucanos, son capaces de formar soluciones altamente viscosas, esta propiedad es dependiente del volumen hidrodinámico del polisacárido y no de su composición química.



El consumo de este tipo de fibra, incrementa la viscosidad de la ingesta y esto se ha asociado con un descenso en la actividad de la pepsina, incremento del pH intragástrico, retardo en el vaciamiento gástrico, aumento en la secreción de enzimas digestivas.

Otra habilidad atribuida a la viscosidad es el retardo en la absorción de nutrientes observado con polisacáridos viscosos. El efecto de la viscosidad sobre la absorción de nutrientes puede ser responsable de la respuesta sobre el colesterol plasmático y de la glicemia post-prandial que provoca la fibra soluble. (Anderson, et al. 1990)

c) Sitios de degradación

En el intestino grueso se degradan los glúcidos complejos que no pueden ser digeridos y absorbidos en el intestino delgado, la degradación es debida a la utilización de estos como sustratos de la microflora; esta se ve incrementada o disminuida dependiendo del glúcido de que se trate, por ejemplo, la pectina y goma guar disminuyen la masa fecal por lo que los niveles de las bacterias baja.

En el tracto intestinal se ha demostrado que cuenta con una población de 100 trillones de bacterias con cerca de 15 diferentes familias o grupos de géneros que incluyen de 70 a 80 especies o subespecies. Aproximadamente en la mitad de las heces fecales que se eliminan del cuerpo humano consisten de bacterias vivas o muertas (1.0 a 1.5 Kg de biomasa) esto puede ser calculado por el tamaño y peso de las bacterias intestinales. (Rowland & Mallett, 1990; Torres, 2002)

**d) Capacidad de enlazamiento.**

Fibras dietéticas enlazan fuertemente ácidos biliares, tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta adsorción puede incrementar la excreción de ácidos biliares en las heces, provocando demanda por el colesterol en la vía de síntesis de ácidos biliares lo cual inducirá a un desvío de la ruta de síntesis de lipoproteínas, el efecto producido es la reducción del colesterol plasmático, esto explicaría el efecto hipocolesterolémico observado por el consumo de fibra. (Story & Furumoto 1990)

e) Capacidad de intercambio catiónico

Propiedad de la fibra cuya función es servir como reservorio de metales como potasio, sodio, calcio, magnesio y otros, los cuales pueden ser reemplazados a pH bajos por H^+ , para luego intercambiarse por nuevos cationes, como cuando la ingesta y la saliva se mezclan. Esta propiedad puede ser un factor positivo para la digestión fermentativa, pero no siempre ya que puede conferir efectos negativos sobre la biodisponibilidad de minerales. (Gordon 1990)

f) Fermentabilidad.

El proceso denominado fermentación es cuando la flora bacteriana (principalmente en el colon) degrada anaeróbicamente sustratos provenientes de la dieta o endógenos para obtener energía, es indispensable para el buen funcionamiento del tracto gastrointestinal.

Primer nivel de regulación. – Composición de la dieta, la cual provee el sustrato a fermentar, siendo los principales componentes para este proceso, la fibra, almidón no digerido y proteínas no digeridas. (Rowland & Mallett 1990)



Los componentes de la fibra se degradan de diferente forma asociado con una mayor capacidad de retención de agua, lo cual a su vez incide sobre solubilidad, las fibras solubles son más propensas a la degradación fermentativa.

2. 4 EFECTOS FISIOLÓGICOS Y METABÓLICOS EN EL COLON HUMANO

Desarrollo de la flora intestinal en niños y adultos

Entre el primero y segundo día de vida de los recién nacidos son alimentados con leche materna y suplementariamente con leche de vaca, en esta etapa principalmente se encuentra en el colón del niño enterobacterias (*E. Coli*), *Streptococos* y *Clostridium perfringes* son predominantes. En el tercer día los Bacteroides, *Bifidobacterium* y *Clostridium perfringes* se encuentran en un 40% de los infantes. Entre el cuarto y el séptimo día las bifidobacterias se vuelven predominantes con cifras de 10^{10} a 10^{11} organismos por gramo de excremento y *Clostridium perfringes*, bacteroides, enterobacterias, Streptococos y estafilococos disminuyen. Cuando los infantes empiezan por consumir una dieta normal de adultos, las bifidobacterias disminuyen en forma logarítmica y el número de bacteroides, eubacterias y usualmente *Clostridium perfringes* exceden en número a las bifidobacterias que constituyen del 5 al 10% de la flora total.

En personas adultas las bifidobacterias disminuyen y otras como *Clostridium. perfringes* aumentan significativamente así como el género Streptococcus.



Factores tales como la dieta, aspectos psicológicos (estrés), eficacia en el metabolismo de las drogas, carcinogénesis, envejecimiento, respuesta inmunológica y resistencia a las infecciones por endotoxinas, entre otros, influyen de manera significativa en el equilibrio de la flora intestinal. (Torres, 2002)

Efecto de la dieta

La ingestión de grandes cantidades de grasa promueve la secreción de bilis incrementando el ácido biliar y el colesterol en el intestino, esto a su vez concentra ciertas sustancias que son convertidas por las bacterias intestinales en ácidos secundarios relacionados o clasificados como carcinógenos. Fenol, aminas y componentes nitrosos producidos por las bacterias intestinales a partir de proteínas también participan en la carcinogénesis. (Story & Furumoto, 1990; Anderson et al, 1990; Torres, 2002)

La ingesta de cantidades adecuadas de fibra en la dieta, se asocia con efectos tales como.

- i. Reducción del tiempo de tránsito a través del intestino e incremento en el volumen fecal de tres a cinco veces,
- ii. Previene la absorción de colesterol y diluyen las sustancias potencialmente dañinas,
- iii. Favorece que predominen las bacterias benéficas en el balance de la flora intestinal,
- iv. Suprime la actividad de las bacterias dañinas y consecuentemente la producción de sustancias tóxicas.



Sustratos utilizados por la microflora colónica

Los sustratos que provienen de fuentes exógenas (dietéticas) son hidratos de carbono y proteína. Los hidratos de carbono pueden clasificarse en dos grandes grupos:

1. Almidón resistente (AR)
2. Polisacáridos diferentes al almidón (PDA)

El almidón resistente consiste en todos aquellos remanentes del almidón que se consumen en la dieta y que se resisten a la degradación amilolítica que ocurre antes de llegar al colon. Solo un 10% de almidón consumido llega al colon intacto. Este almidón mediante la fermentación colónica se ha observado que produce mayor cantidad de butirato que cuando es fermentada la misma cantidad de otro sustrato.

Los polisacáridos diferentes al almidón (PDA) y que no son degradados por las enzimas digestivas se conocen con el nombre de fibra dietética. (Torres, 2002)

Productos de la fermentación bacteriana

La fermentación bacteriana produce a partir de los sustratos anteriormente mencionados los siguientes productos:

1. Energía, utilizada por los microorganismos que la producen y por el mismo colonocito; se obtiene principalmente por la degradación de hexosas (glucosa, ácido glucurónico y galacturónico).
2. Ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato.
3. Gases como metano e hidrógeno.



Por mucho tiempo se pensó que el material que pasaba del ileon terminal era insignificante para proveer de energía al organismo. Sin embargo, experimentos más recientes han demostrado que en humanos, los AGCC se absorben rápidamente y por lo tanto, son una fuente energética inmediata para el metabolismo humano. A partir de la capacidad de absorción de AGCC intestinal, se ha calculado que hasta 540 Kcal / día pueden obtenerse de estos ácidos grasos. El proceso de absorción de estos gases es la difusión pasiva.

El acetato sirve como fuente de energía para la síntesis de ácidos grasos de cadena larga y para la producción de cuerpos cetónicos.

El butirato es la fuente energética más importante. Interactúa con sucesos genéticos de tumorigénesis. (Fleming & Yeo, 1990; Rombeau et al, 1990; Torres 2002)

2.5 EFECTO DE LA FIBRA SOBRE LA ABSORCIÓN DE NUTRIENTES

En el siguiente punto se describe la influencia que tiene la fibra dietética sobre la bio-disponibilidad de los nutrientes, esta información es una recopilación de diversos autores que han estudiado este efecto, la cual fue reunida por Ruiz-Roso et al, 2001.

Bio-disponibilidad de la proteína

La fibra dietética (FD) disminuye la digestibilidad de las proteínas, esto es lo que indican los resultados de diferentes estudios, aunque esta disminución en la digestibilidad no afecta a la secreción de enzimas proteolíticas. Una posible explicación a este fenómeno es que la fibra dietética se encuentra formando una barrera física a la difusión de estos enzimas o por procesos de adsorción y absorción.



La solubilidad y la viscosidad también son consideradas como factores para explicar el aumento de la secreción de proteínas.

Bio-disponibilidad de los minerales

Debido a una interacción en la absorción intestinal, la FD puede disminuir la utilización nutritiva de los minerales, en especial la de los metales bivalentes.

Los mecanismos responsables de dicha interacción que se han propuesto son los siguientes.

- a) Disminución del tiempo de tránsito intestinal, lo que provocaría una disminución tanto de la absorción de los minerales así como la reabsorción de los minerales endógenos.
- b) Dilución del contenido intestinal y aumento del volumen fecal.
- c) Formación de quelatos entre componentes de la fibra y minerales.
- d) Alteración del transporte pasivo y activo de minerales a través de la pared intestinal.
- e) Intercambio iónico.

La fibra dietética contiene minerales, y algunos de ellos parece que son disponibles. Se ha detectado que algunos tipos de fibra son depresores de la utilización nutritiva de algunos minerales, sin embargo la intervención de diversos factores como, el estado nutritivo del individuo, cantidad y calidad de fibra y minerales ingeridos, etc., condicionan los efectos reales que puedan observarse.



Bio-disponibilidad de hidratos de carbono

La FD produce efectos beneficiosos en la tolerancia a la glucosa, además de modificar la secreción de insulina y glucagón. El efecto que produce la FD sobre el aprovechamiento de los carbohidratos se denomina índice glicémico (IG). La FD provoca una reducción sobre el IG, esto se debe principalmente a la fracción soluble

Bio-disponibilidad de grasas

La fibra dietética se une a la grasa en el lumen favoreciendo su excreción fecal. Algunas de las causas relacionadas con este mecanismo son las propuestas por Ikeda et al (1989)

- a) Retraso del vaciado gástrico y aceleración de tiempo de tránsito intestinal.
- b) Adsorción de sales biliares e inhibición de la solubilidad micelar del colesterol y de los enzimas lipolíticos.
- c) Reducción de la accesibilidad de las micelas a la superficie de las células de la mucosa intestinal, sobre todo por las fibras viscosas.

2.6 PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS

En la determinación de fibra cruda se mide el peso del residuo no digerible después de su digestión en ácido y álcali diluidos y su previa extracción con disolventes orgánicos, realizándose una corrección para cenizas. Aunque esta determinación fue un método oficial de la AOAC, desde 1955, no proporciona una determinación exacta de las fibras de la dieta, incurriendo en errores de cuantificación. Se pierden todas las fracciones solubles junto con una cantidad variable de fibras insolubles.



El método enzimático detergente neutro incluye una modificación para reducir la interferencia del almidón gracias a su tratamiento con amilasa y es el reportado como método oficial de la AACC (American Association of Cereal Chemists) observado en la figura 2. Para fibra insoluble el más usado es el reportado en la AOAC método 984.6 (1995).

El creciente interés en una medición sencilla y fiable de las fibras en los alimentos condujo al desarrollo del actual método oficial de la AOAC 985.29, 1995, que integra los estudios desarrollados por Prosky et al (1988); este método consiste en digerir la muestra por cuadruplicado con amilasa termoestable a 100° C para hidrolizar al almidón y se aplican tratamientos similares al anterior con las siguientes enzimas, proteasa y amiloglucosidasa, para digerir las proteínas y los residuos de almidón, una vez digerida la muestra se precipita con etanol 95% y se lavan estos residuos nuevamente con etanol 95% y acetona, se incinera dos de los residuos uno para la corrección de cenizas y el otro se analiza para determinar el nitrógeno y corregir el contenido de proteína indigerible. En la figura 3 se muestra el esquema de la determinación de fibra dietética según el método oficial 985.29 de la AOAC, 1995.

Cada día se van encontrando nuevas metodologías y modificaciones a la ya existente publicada por la AOAC con el fin de tener una medición sencilla, confiable, rápida y menos costosa.

Almanzan & Zhou (1994) modificaron el método de la AOAC (1990, 1992) [es el mismo que el mostrado en la figura 3], reduciendo la concentración de etanol que se utiliza para precipitar la fibra, con el objetivo de disminuir costos para la determinación de fibra dietética total, las concentraciones usadas fueron del 41% y 56%; los resultados no se vieron afectados por esta modificación.

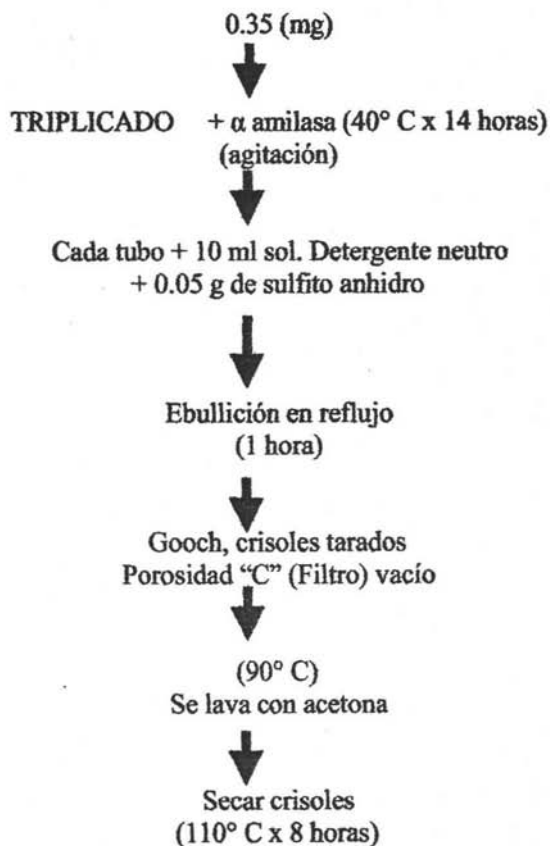


Figura 2. Esquema de la determinación de fibra detergente neutro según Van Soet & Wine (1967).

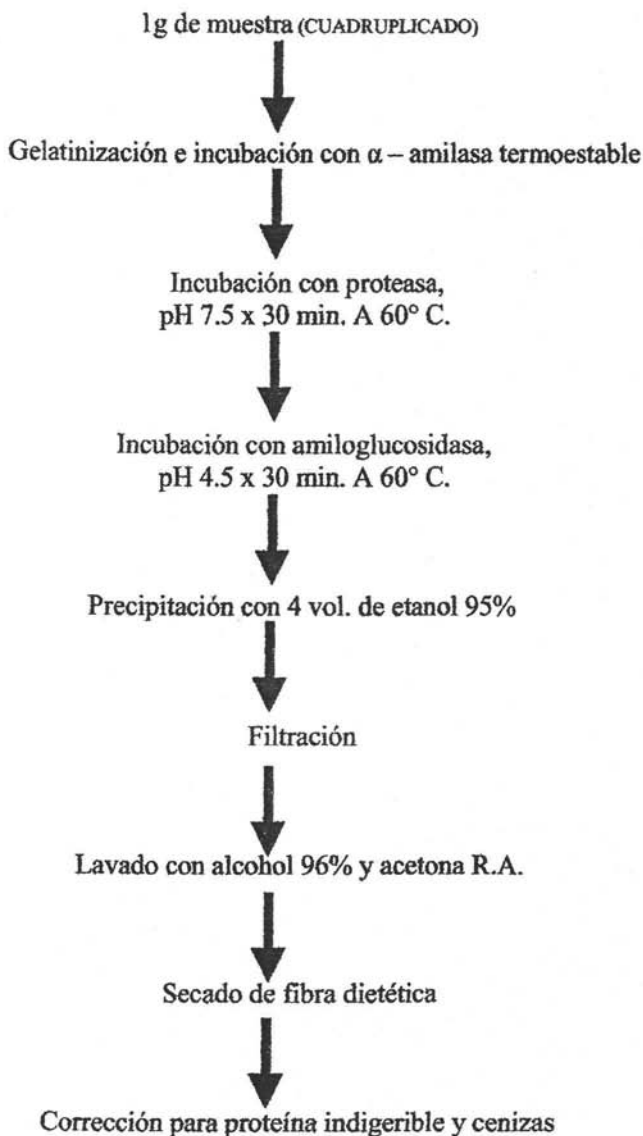


Figura 3. Esquema de la determinación de fibra dietética según la AOAC (Prosky et al, 1988 y método oficial de la AOAC, 1995).



Li & Andrews, 1988 simplificaron el método mediante el uso de un tratamiento simple enzimático (amiloglucosidasa) para determinar la fibra dietética total (TDF); Jeraci (Bello, 2003), usó diálisis enzimática con urea para determinar FDT o fibra dietética insoluble (FDI) y fibra dietética soluble (FDS), y ellos obtuvieron una proteína cruda y una contaminación de cenizas de los residuos más baja que el método 985.29 de la AOAC (1990); Lee & Hicks (1990), reemplazaron el buffer fosfato con buffer MES/TRIS (ácido 2- morfolinoetano sulfónico / hidroximetil d₃ amino-d₂metano) para mejorar la precisión del análisis, Mañas (Bello, 2003), usó un tratamiento enzimático simple (proteasa) para la determinación de FDI y FDS en muestra cítricas.

Li & Cardozo (1992), propusieron un método gravimétrico no enzimático para la determinación de FDS en frutas y vegetales y que el valor de FDS fuera obtenido como la diferencia entre FDT y FDI, porque el método 985.29 de la AOAC (1990) no era preciso para cuantificar la FDS; debido a la diferencia entre la cuantificación de FDT y la suma de FDI y FDS García, et al. (1997) realizaron un estudio con dos nuevas variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) demostrando que la suma de FDS y FDI no coincidía con el contenido de FDT, este error está asociado a problemas con la precipitación etanólica de la FDS (Mañas & Saura-Calixto, 1993 observaron que se precipitan tanto componentes no fibrosos, así como la precipitación incompleta de los componentes de la FDS.) También se comparo los métodos químicos con los enzimáticos – gravimétricos, los cuales demuestran que existen diferencias en el valor de la fibra.



Asp (Bello, 2003), cita un método enzimático gravimétrico para la determinación de fibra soluble e insoluble que incluye: gelatinización por cocción durante 15 minutos en presencia de una α -amilasa termoestable, incubación con pepsina a pH ácido por 1 hora, incubación con pancreatina a pH neutro por 1 hora. La fibra dietética insoluble es filtrada con la ayuda de celite, luego la fibra dietética soluble es precipitada con 4 volúmenes de etanol 95%. Prácticamente todo el almidón es solubilizado, sin embargo hay un remanente proteico no digerido, como se puede observar en la figura 4.

En el Reino Unido el método oficial es el reportado por Englyst & Cumming 1990, en el mismo se cuantifica la fibra dietética como polisacáridos no amiláceos de las paredes celulares en los vegetales pero ignora la lignina.

El desarrollo extensivo que han sufrido los métodos de análisis de la fibra dietética ha sido en las dos últimas décadas. En la actualidad los métodos más utilizados son el método oficial de la AOAC, 985.29 (1995) enzimáticos – gravimétricos basados en el trabajo de Prosky et al, 1988 y el método de Englyst enzimático – químico (Englyst & Cummings, 1990). El primero es el procedimiento legal o recomendado en por lo menos 10 países y el segundo ha sido recomendado como el método oficial en el Reino Unido.

2.7 ESTUDIOS SOBRE EL EFECTO DE COCCIÓN SOBRE LA FIBRA DIETÉTICA

Cereales como el maíz que se consume tradicionalmente como tortilla; leguminosas como el frijol (dieta básica del mexicano), garbanzo y tubérculos como la papa que son servidas

para acompañar platillos; son algunos de los alimentos que tradicionalmente consume la población mexicana, en general. La práctica común para el consumo de alimentos de origen vegetal es cocinarlos antes de consumirlos. Esta cocción conlleva a cambios físicos y químicos en su composición, también produce cambios estructurales en los componentes de la fibra dietética.

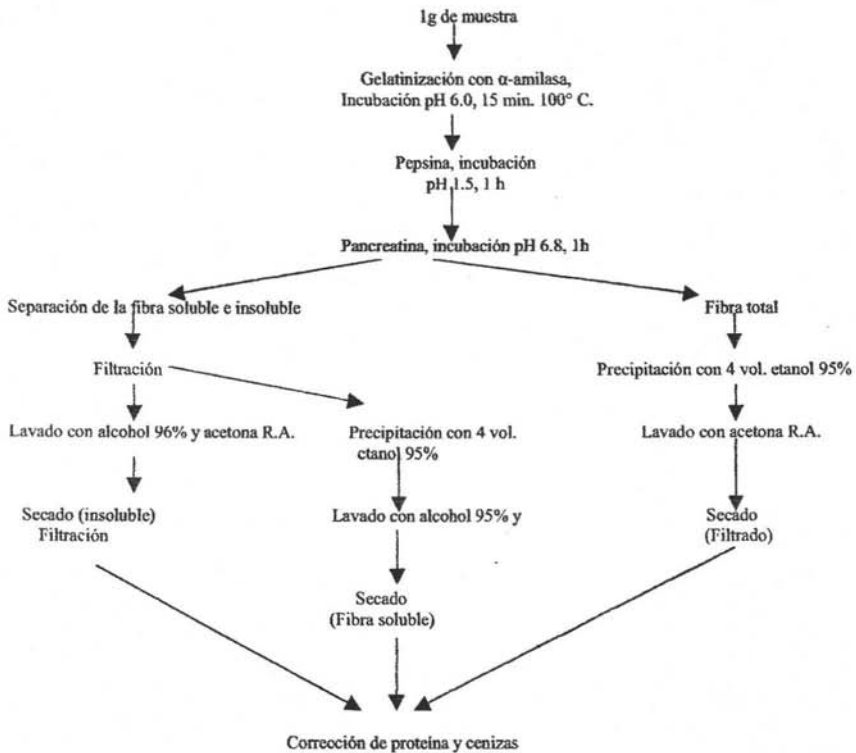


Figura 4. Esquema de la determinación de fibra dietética soluble, insoluble y total según Asp (Bello, 2003).



Dado el impacto de la fibra dietética en la salud, muchos investigadores se encuentran dedicados al estudio de los diferentes tratamientos térmicos a los que son sometidos los alimentos. Los diversos métodos de cocción analizados son:

1. Remojo, aunque este tratamiento no es térmico, también se ha estudiado su efecto.
2. Cocción convencional.
3. Cocción a presión (autoclave)
4. Calentamiento por microondas.
5. Freído.

Existen dos variables más en estudio a parte del tratamiento térmico que modifica los valores de la fibra dietética, éstas son el contenido de amilosa, amilopectina y el tratamiento industrial que se aplica a los vegetales, como son: el enlatado, secado del alimento para su transformación en harina.

Pérez-Hidalgo et al. (1996) decidió conocer el efecto en el contenido de FD en el garbanzo cuando se sometió a los siguientes tratamientos: remojo, cocción convencional y freído. Los garbanzos remojados aumentaban el valor de fibra dietética con respecto a la muestra cruda, sin embargo fue poco significativo este aumento. En las muestras cocidas aumento significativamente más el valor de FD produciendo cambios en su contenido, ellos explican que este aumento se podría deber a la formación de almidón resistente, productos de Maillard y complejos de taninos-proteínas.



Periago et al (1997) y Vidal – Valverde & Frias (1991) concuerdan con Pérez – Hidalgo et al. (1996) en que en el contenido de FD se observa un incremento cuando este tipo de leguminosa es cocido; sin embargo el estudio fue enfocado a cuantificar los componentes insolubles de la FD y no la determinación de fibra dietética total.

En estudios comparativos, pero con papa realizados por Thed et al (1995) y Reistad & Hagen, (1986) obtuvieron un mayor contenido de FDT en las muestras cocidas con respecto a las crudas, el tratamiento que llevaron a cabo fue cocción convencional; sin embargo Herranz, et al (1981) y Zia - ur - Rehman et al (2002) difieren en los resultados observando lo contrario; las muestras crudas presentan mayor contenido de FD que las cocidas. Estos dos últimos estudios se enfocaron solamente a los componentes de la FDI, cuantificando los componentes insolubles de la fibra y atribuyendo este resultado a la disminución de alguno de estos (celulosa, hemicelulosa o lignina).

Kutoš, et al (2002), también evaluaron el proceso de cocción, pero esta vez en frijoles, encontrándose valores de FDT mayores en las muestras crudas.

3. ALMIDÓN

Continuamente se siguen haciendo estudios sobre el almidón debido a sus grandes propiedades físicas y químicas, el conocimiento de estas ha servido para el uso del mismo en diversas industrias, generándose día con día nuevas investigaciones acerca de su estructura, estudiada por diversas técnicas analíticas, por lo tanto la presente información sobre esta, es la recopilación realizada por Bello (2003), de diversos autores.



El principal carbohidrato de reserva es el almidón. Este es sintetizado por las plantas superiores, sirve como fuente de energía esencial para muchos organismos principalmente el hombre.

El almidón representa una fracción importante de algunos productos agrícolas, cuyo contenido para cereales (maíz, trigo, arroz) es del 30 al 80%, leguminosas (frijol, chícharo, haba, garbanzo) de un 25 a 50% de almidón y en tubérculos (papa, yuca, camote) del 60 y 90%.

Este biopolímero constituye una excelente materia prima para modificar la textura, apariencia y consistencia de los alimentos.

El almidón está organizado en partículas discretas las cuales se conocen como gránulos, su morfología, composición química y estructura súper molecular (arreglo relativo de las macromoléculas en el estado sólido) son características de cada especie. La variación del tamaño en los gránulos de almidón va de 0.5 a 100 μm . Los gránulos más grandes están presentes en la papa (15 a 100 μm). El tamaño de partícula así como su distribución afecta las propiedades funcionales de los gránulos de almidón. Los gránulos pequeños tienen las propiedades de mayor solubilidad y alta capacidad de absorción de agua. Los gránulos de almidón pueden reconocerse por su forma, tamaño, posición del hilio (punto original a partir del cual ocurre el crecimiento del gránulo) y temperatura de gelatinización.

Los almidones de *tubérculos* son generalmente voluminosos y helicoidales con un hilio excéntrico; los de los *cereales* son polimórficos, otros son esféricos o hemisféricos truncados o polihédricos.



Los almidones presentan estructuras cristalinas y no cristalinas, la relación entre estas estructuras es el principal factor que determina las propiedades del almidón. Estas estructuras presentan un patrón típico de difracción de rayos X que va a depender del tipo de almidón.

En estudios realizados se ha demostrado que el patrón de difracción para los *cereales* es del tipo A, para los *tubérculos* es del tipo B, algunos *tubérculos* y granos un patrón tipo C y los *complejos de amilosa* el tipo V, como se ilustra en la figura 5. Después de haber sufrido una modificación física o química se ha descubierto que los patrones de difracciones de los almidones cambian (Zobel, 1988a; Imberty, 1991).

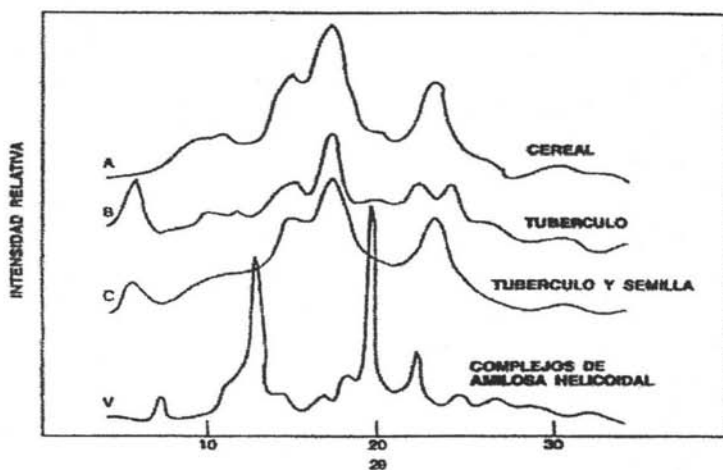


Figura 5. Patrones de difracción de rayos X, para diferentes almidones Zobel (1988a)



El almidón está compuesto principalmente (98-99%) de polímeros de D-glucosa, químicamente el almidón consiste de dos polímeros de diferente estructura, *amilosa* y *amilopectina*, además de que en algunos almidones se ha identificado un tercer componente denominado de material intermedio. Los componentes del almidón se ilustran en la figura 6.

La estructura del almidón necesita ser considerada a dos niveles distintos:

- Nivel molecular, que se refiere a la cantidad, estructura fina, tamaño y forma de las moléculas.
- Nivel estructura súper molecular del gránulo.

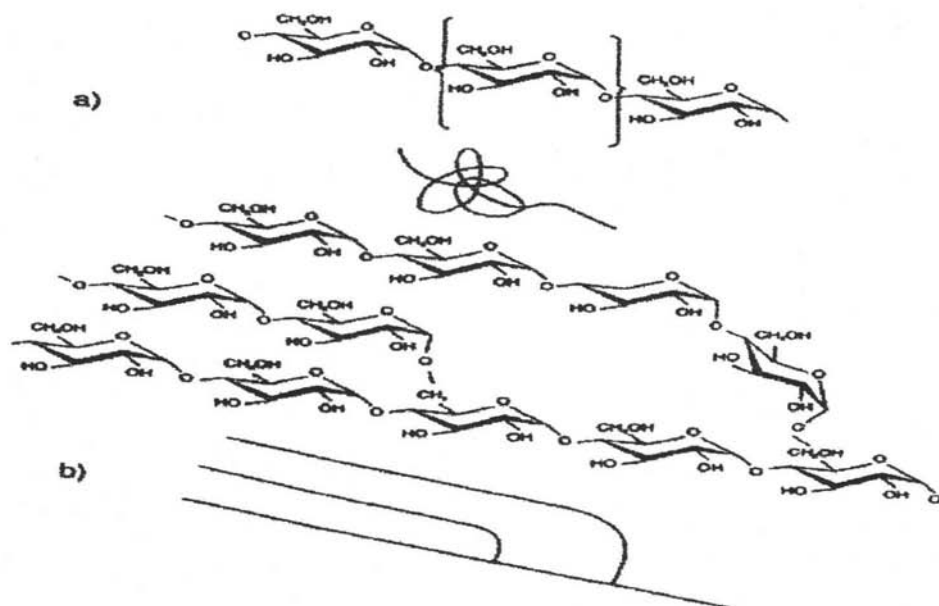


Figura 6. Componentes del almidón. A) Amilosa, polímero lineal flexible compuesto de D-glucosa ($\alpha - 1 \rightarrow 4$), b) Amilopectina, polímero ramificado compuesto de D-glucosa ($\alpha - 1 \rightarrow 4$) y ($\alpha - 1 \rightarrow 6$). (Fennema, 1998)



3.1 ESTRUCTURA QUÍMICA DEL ALMIDÓN.

3.1.1 Amilosa

La amilosa es un polímero esencialmente lineal, formado por unidades de D-glucosa unidas por enlaces α - (1,4), sin embargo, se ha demostrado la presencia de cierta cantidad de enlaces α - (1,6) en esta macromolécula. Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuente, lo que permite observar que la amilosa se comporte como un polímero lineal. La molécula de amilosa contiene, en promedio, de 500 a 6000 unidades de D-glucosa repartidas en un número de cadenas que va de 1 a 20. Cada cadena tiene un grado de polimerización (GP) promedio de 500 (GP, es el número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena).

3.1.1.1 Clasificación

Por su contenido de amilosa, los almidones se pueden clasificar en diferentes grupos:

- Almidones cerosos.- tienen muy poca cantidad de amilosa, alrededor del 1 - 2%.
- Almidones normales.- contienen entre 17-24% de amilosa.
- Altos en amilosa.- que contienen 70% o más de este polímero.

Debido a su carácter esencialmente lineal y a la presencia exclusiva de enlaces α - (1,4), esta es susceptible de formar complejos con moléculas hidrofóbicas como el yodo, los ácidos grasos o los hidrocarburos; este acomplejamiento produce un tipo de estructura helicoidal, formada con 6 unidades de glucosa por giro de hélice, los grupos hidrofílicos de la cadena están orientados hacia el exterior y los hidrofóbicos hacia el interior de la cavidad.



3.1.1.2 Caracterización Analítica

La base para caracterizar analíticamente y cuantitativamente la amilosa es el acomplejamiento que presenta con el yodo, la capacidad de enlazamiento es del orden de 20 mg de yodo por 100 mg de amilosa y una máxima longitud de onda entre 620 y 640 nm.

3.1.2 Amilopectina

Es el componente ramificado del almidón está formada por cadenas de residuos α -D-glucopiranosidos entre 17 y 23 unidades, unidos principalmente por enlaces α -(1,4), en los puntos de ramificación se presentan enlaces α -(1,6) estos representan entre un 5 - 6%. El peso molecular de la amilopectina varía entre 106 y 108 g/mol, estas variaciones dependen de: origen botánico, maduración de la planta, condiciones de aislamiento de la amilosa y amilopectina y el método usado para determinar el peso molecular.

3.1.2.1 Fraccionamiento de la molécula.

La enzima β -amilasa ataca los enlaces α -(1,4) de la amilopectina para producir dextrinas β -límite (que son las cadenas residuales que contienen los puntos de ramificación), un ataque posterior con pululanasa o isoamilasa, que actúan sobre los enlaces α -(1,6) permite obtener maltosa.

3.1.2.2 Estudios relacionados sobre la estructura

En términos de su tamaño molecular, ramificación y longitud de las cadenas internas y externas la molécula ha recibido especial atención y por lo tanto ha sido estudiada ampliamente.

Haworth et al., 1937 propusieron una estructura laminada para la amilopectina, a partir de este estudio el mismo año Staudinger & Husemann sugirieron una estructura tipo espiga en la

cual una cadena principal contenía todas las ramificaciones. Posteriormente, Meyer & Bernfeld en 1940 propusieron un modelo con ramificaciones al azar, todos estos modelos se fundamentaron en análisis químicos. Después Peat et al, 1952 introdujeron la terminología A-, B- y C-, para diferenciar las cadenas.

La cadena A- se enlaza al resto de la molécula a través de un extremo reductor.

La cadena B- está enlazada con una cadena A- pero transporta otras cadenas A- y/o B- en uno o más de los grupos hidroxilos primarios.

La cadena C- no está sustituida en el grupo extremo reductor y sólo existe una cadena de este tipo por molécula.

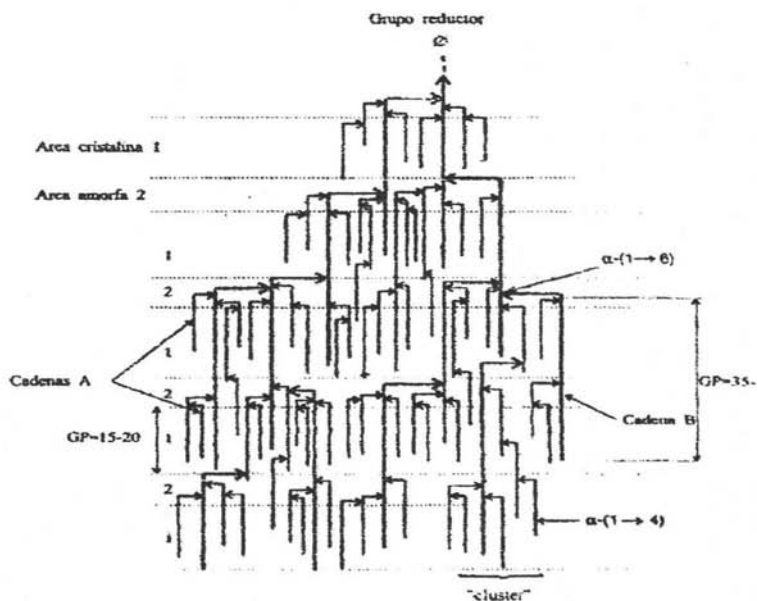


Figura 7. Modelo de grupos para la estructura de la amilopectina según Robin et al, 1974.



Esta nomenclatura es inconsistente para la elucidación de la estructura por lo que se utiliza como mejor parámetro el grado de polimerización.

Con la utilización de enzimas des-ramificadoras se podría obtener una información más detallada de su estructura y sobre la base de estos estudios Robin et al, 1974 propusieron un modelo para la amilopectina basado en la estructura de racimo o grupo ("Cluster"), como se observa en la figura 7; en este modelo las cadenas A- y B- son lineales y tienen un GP de 15 y 45, respectivamente. La cadena B- forma la columna de la molécula de amilopectina y se extiende sobre dos o más racimos. Cada racimo contiene de 2 a 4 cadenas A- estrechamente asociadas. Los racimos asociados de cadenas A- son primeramente responsables de las regiones cristalinas dentro del gránulo. Las áreas intercristalinas (amorfias) se presentan a intervalos de 0.6 – 0.7 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces α - (1,6) siendo relativamente susceptibles a los agentes hidrolíticos (ácidos y enzimas). En general la molécula de amilopectina es de 1.0 a 1.5 nm de diámetro y de 12 a 40 nm en longitud.

3.2 CAMBIOS EN EL ALMIDÓN (TRATAMIENTOS TÉRMICOS)

3.2.1 Gelatinización. (Charley, H. 1997)

El gránulo de almidón está organizado en una estructura anillada, las moléculas de amilopectina son perpendiculares a los anillos y están dirigidas hacia la superficie exterior del gránulo. Las moléculas de amilopectina se alinean a lo largo de un eje imaginario que se extiende desde el hilio del gránulo hasta el exterior del mismo. Las regiones de estas moléculas largas y ramificadas forman cristales. Esta orientación de las regiones amorfas y cristalinas proporciona su característica de birrefringencia, conocida como la cruz de "malta". Las regiones



amorfos o no –cristalinos contienen a las moléculas de amilosa y secciones de moléculas de amilopectina que no están en los cristales. Cuando el gránulo de almidón absorbe agua las áreas amorfas se pueden mover más libremente dentro del gránulo.

El proceso de gelatinización consiste en el hinchamiento del gránulo cuando este es irreversiblemente modificando y la temperatura de este fenómeno se llama, temperatura de gelatinización. Cuando alcanza esta temperatura el gránulo llega a su límite de máximo hinchamiento, perdiendo su birrefringencia e inicia el espesamiento del líquido, por lo tanto la molécula de amilosa sale de este solubilizándose en el medio, la amilopectina queda dentro del gránulo para finalmente perder su estructura.

Efecto de la temperatura.

Los gránulos del almidón se empastan a diferentes temperaturas dependiendo de la fuente de almidón. Los gránulos más grandes tienden a hincharse a menores temperaturas.

El aumento en la viscosidad es una forma de evaluar el empastamiento. La viscosidad máxima de una pasta cocinada se observa cuando se ha realizado un exudado total y un plegamiento (deformación) del gránulo de almidón hinchado; este espesamiento es debido principalmente a la solubilización de la amilosa en el medio.

En la figura 8 se observan gráficas de espesamiento para algunas fuentes de almidón. La pasta de almidón de papa, alcanza el máximo de viscosidad a muy baja temperatura, cayendo abruptamente la viscosidad al aumentar la temperatura. El comportamiento del almidón de maíz céreo es muy similar al observado en el almidón de papa, presentando una caída rápida después de los 75° C.



En cambio el almidón de maíz, necesita una elevación mayor de la temperatura antes de observarse un incremento en la viscosidad, sin embargo la curva de un cereal es muy diferente a la curva de la papa o maíz cereo, el espesamiento es gradual por un momento, después muestra un aumento marcado y luego se nivela de nuevo; esta discontinuidad es típica de los almidones de cereales.

Cuando los almidones de maíz normal, trigo y arroz se calientan hasta el punto de ebullición el empastamiento es completo.

Efecto de Solutos

La gelatinización del almidón es afectada por la presencia de solutos de bajo peso molecular (no – iónicos y electrolitos), también por hidrocoloides hidrofílicos.

Azúcares.

El incremento de la concentración de azúcares impide el hinchamiento del gránulo de almidón por lo tanto aumenta la temperatura de gelatinización y la viscosidad no se verá incrementada. Este incremento se puede deber a la competencia entre el almidón y el azúcar por el agua disponible, un efecto inhibitorio por parte del azúcar para que el gránulo se hidrate o interacciones azúcar – almidón. El efecto de los monosacáridos sobre la temperatura de gelatinización es menos drástico que el efecto de los disacáridos, con la excepción de la maltosa que actúa en forma similar a un monosacárido. Los altos niveles de sacarosa y lactosa afectan el empastamiento del almidón más que los otros azúcares.

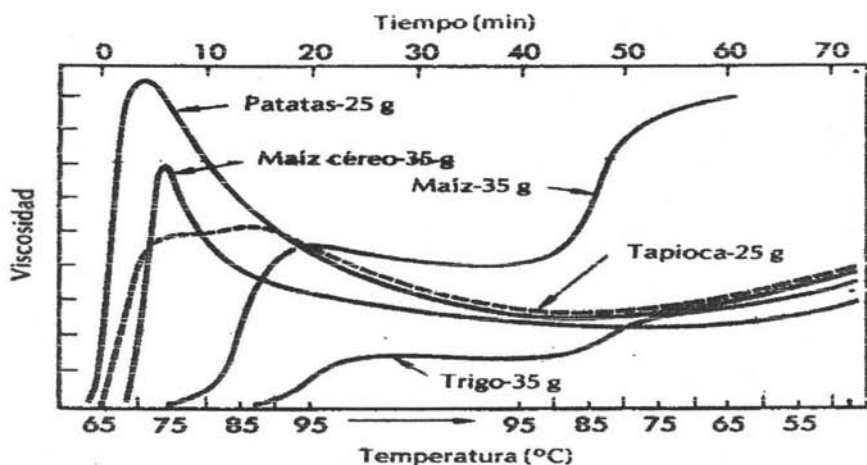


Figura 8. Gráfica de los cambios en la viscosidad durante el calentamiento, mantenimiento y enfriamiento de las pastas de almidón. (Charley, 1997)

Sales

Evans y Haisman, (1982) encontraron que el cloruro de sodio y el cloruro de calcio a bajas concentraciones incrementaban ligeramente la temperatura de gelatinización, pero a mayores concentraciones la temperatura de gelatinización disminuía. Oosten (1982) sugirió que el almidón actúa como un intercambiador débil de iones ácidos, que los cationes tienden a proteger y estabilizar la estructura del gránulo, mientras que los aniones son los agentes gelatinizantes ya que realizan una ruptura de enlaces de hidrógeno.



Lípidos

El almidón de maíz contiene pequeñas cantidades de ácidos grasos libres, el almidón de arroz principalmente contiene lisolectina, estos ácidos grasos libres y lisofosfolípidos forman complejos de inclusión con la amilosa. Diversos autores han demostrado que durante el complejo amilosa-lípidos (como se muestra en la figura 9) ocurre durante los tratamiento térmicos, especialmente durante la gelatinización.

El acomplejamiento de amilosa con lípidos provoca la formación de una hélice, las cadenas del ácido graso son inmovilizadas ocupando la cavidad central de dicha hélice.

Los complejos que se encuentran en forma natural y los formados durante el tratamiento térmico, muestran propiedades específicas, por ejemplo: disminución en la solubilidad de la amilosa, incremento en la temperatura de gelatinización (Eliasson et al, 1981). Los lípidos polares (ácidos grasos y sus ésteres monoglicéridos) son de importancia tecnológica en los productos que contienen almidón, por que causan una reducción en la pegajosidad, mejoran la estabilidad de los ciclos congelamiento - deshielo y retardan la retrogradación.

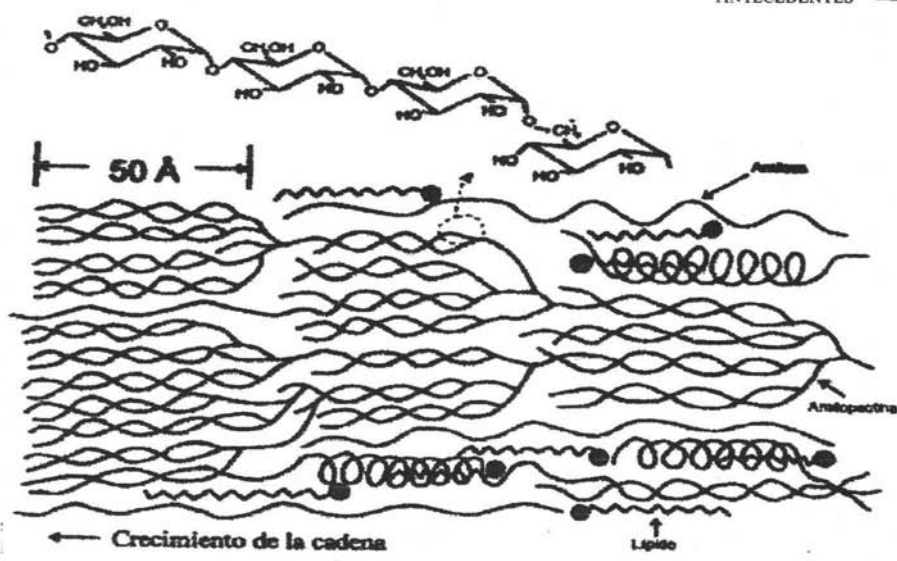


Figura 9. Ilustración del acomplejamiento amilosa-lípido durante el tratamiento térmico. Biliaderis (1992)

3.2.2 Gelación.

Después de la gelatinización o formación de la pasta, sigue una reasociación de las moléculas de amilosa solubilizadas y fuera del gránulo hinchado y las moléculas de la amilopectina que se encuentran todavía dentro del gránulo deformado, produciéndose dos fases. La reasociación de la amilosa es a través de la formación de enlaces de hidrógeno con moléculas de amilosa adyacentes. El comportamiento reológico podría depender de la cantidad y características tanto de la fase dispersa (gránulos hinchados ricos en amilopectina) y la fase continua (matriz de amilosa) como de otras interacciones con el agua. La amilosa usualmente gelifica fuera del gránulo, mientras que la amilopectina cristaliza dentro del gránulo; la



formación de enlaces de la amilosa se realiza en pocas horas sin embargo para la amilopectina sucede lo contrario. (Charley, 1997)

3.2.3 Retrogradación

La retrogradación es un proceso el cual ocurre cuando las moléculas de almidón ya gelatinizadas comienzan a reasociarse en una estructura ordenada. Si la pasta de almidón gelatinizado se enfría lentamente existe tiempo necesario para que las moléculas de amilosa formen varios enlaces de hidrógeno. (Charley, 1997)

La retrogradación consiste en dos procesos:

- b) gelación de las moléculas de amilosa exudadas del gránulo durante la gelatinización y
- c) recristalización de la amilopectina.

La retrogradación es un proceso complejo que depende de muchos factores tales como:

1. el tipo y concentración de almidón,
2. regimenes de cocimiento y enfriamiento,
3. pH y
4. presencia de solutos como lípidos, sales y azúcares.

3.3 ALMIDÓN RESISTENTE

3.3.1 Procedimientos Analíticos

Recientemente se encontró (Englyst et al, 1982) una fracción del almidón que era capaz de resistir la digestión enzimática, a esta fracción se le denominó “almidón resistente a hidrólisis” o simplemente “almidón resistente”. El almidón resistente a su vez se subdivide en tres tipos de almidón:



AR1. – El atrapado físicamente, p.e. semillas y granos parcialmente molidos (Tovar, Bjorck & Asp 1992).

AR2.- Gránulos nativos, p.c. gránulos de almidón cristalinos (Englyst & Cummings, 1987).

AR3.- Almidón retrogrado, almidón recristalizado después de la gelatinización y enfriamiento posterior cuando se almacena en refrigerador. (Noah, et al.1998)

Ha esta fracción de almidón resistente se le han atribuido beneficios a la salud, por esta razón se han propuesto varias metodologías analíticas de estudios, los métodos a seguir dependen de tipo de almidón que se quiere medir, por ejemplo: para la medición de almidón retrogrado el método que más comúnmente se utiliza es el desarrollado por Saura-Calixto en 1993, este método presenta la ventaja de eliminar la celita y los crisoles en la determinación, volviéndolo más rápido y de fácil aplicación. El método de Goñi et al. (1996), cuantifica las fracciones de almidón tipo 2 y tipo 3, aumentando los tiempos de incubación y adición de otras enzimas.

Uno de los principales problemas que pueden presentar las metodologías es que el tamaño de la partícula de la muestra sea muy grande y por lo tanto el ataque enzimático no sea tan efectivo, por lo tanto la medición sería incorrecta.

Además de las metodologías *in vitro* propuestas para la medición de almidón resistente, también se han realizado investigaciones que lo cuantifican *in vivo*, entre estos estudios se encuentra en la literatura el desarrollado por Cairns et al. (1995), quién compara los valores de almidón resistente medidos *in vivo* e *in vitro* y concluye que no existe cambio significativo al medirlo de una u otra forma, además en esta investigación predicen la estructura del almidón,



proponiendo que este consiste de una estructura principalmente lineal, semi-cristalina, con dos subfracciones ($GP_n > 100$ y $GP_n 20-30$) y una tercera subfracción ($GP_n \leq 5$). En otro estudio, en el cual también se realiza la comparación de las metodologías *in vivo* e *in vitro*, concluyen que los resultados en el valor de almidón resistentes no son los mismos (Marlett et al. 1996).

3.3.2 Investigaciones sobre el efecto de cocción

El aumento o disminución del valor de almidón resistente en los alimentos es ampliamente estudiado, estas investigaciones han utilizado variables como: el tipo de cocción utilizada (doméstica, industrial) (Eggum, et al., 1993; Goñi, et al., 1997; Tovar & Melito, 1996; Velasco et al, 1997 Periago, et al., 1997; Osorio-Díaz 2002, 2003; Vargas, et al., 2004), la proporción de amilosa / amilopectina (Eggum, et al., 1993), el tiempo de almacenamiento (Osorio-Díaz, et al., 2003; Tovar & Melito, 1996; Vargas, et al, 2004) y la influencia de algunos nutrientes en la formación de este. (Escarpa, et al., 1996, Eerlingen, et al., 1994)

En el primer caso Periago, et al. (1997) y Osorio-Díaz, et al. (2002) concuerdan en que el tratamiento industrial disminuye el valor de almidón resistente en las muestras de estudio, la accesibilidad física es un factor que limita la hidrólisis del almidón, pero cuando los gránulos de almidón son gelatinizados y dispersados este factor ya no es limitante para su hidrólisis, esta es la explicación propuesta de los investigadores que justifica la disminución del almidón resistente. Estudios similares pero siguiendo una línea en la cual trataban al material en estudio mediante una cocción convencional, almacenamiento y comparación del contenido de almidón de las muestras crudas y cocidas, comprobaron que estos procesos conllevan al aumento en el contenido de almidón resistente (Tovar & Melito, 1996; Velasco, 1997)



En el proceso de gelatinización las moléculas de amilosa son exudadas del gránulo, y estas son las responsables de la posterior retrogradación del almidón, esto contribuye a formación de almidón resistente del tipo 3, Eggum, et al (1993) en su investigación realizada con cinco variedades diferentes de arroz, demuestra que en las muestras con mayor contenido de amilosa se encuentra un valor mayor de almidón resistente, mientras que en las muestras de arroz con mayor contenido de amilopectina disminuye esta formación.

El tiempo de almacenamiento siempre es un factor importante para la industria de los alimentos, es por esta razón que Osorio-Díaz, et al. (2002, 2003); Vargas, et al., (2004) llevan a cabo la tarea de investigar el efecto de esta variable, el primero enfoca su investigación hacia productos industriales, para determinar el efecto que producen estos tratamientos, como son: el secado, las temperaturas de enlatado, y la influencia de otros componentes como son los lípidos y proteínas; las temperaturas a las cuales son sometidos algunos alimentos cuando se enlatan facilitan la disponibilidad del almidón, esto es lo que reporta la investigación ya que el almidón disponible incrementa al medirlo en las muestras de frijol enlatado, también explican que el acomplejamiento de lípidos con almidón puede disminuir la retrogradación de este. Osorio-Díaz et. al (2003) miden el contenido de almidón resistente en diferentes tiempos (0, 24, 48, 72 y 96 horas), hasta las 48 horas se observó un aumento en el valor de almidón resistente, sin embargo en las próximas mediciones estos valores fueron disminuyendo. En los hogares mexicanos se acostumbra que si en casa sobran frijoles, estos son refrigerados y posteriormente recalentados, es por esta razón que Vargas-Torres et. al, 2004 se ve en la tarea de realizar un estudio que muestre los beneficios que trae consigo esta acción en cinco diferentes especies de frijol;



obteniendo como respuesta una disminución del almidón disponible y consecuentemente un aumento en el almidón resistente.

Algunos alimentos son rica fuente de antinutrientes como el ácido fítico, polifenoles y lecitinas, otros son alterados en su composición industrialmente como herramientas de ayuda para obtener el producto que se desea, entre estos componentes que se adicionan algunos son: lípidos, azúcares, sales, proteínas; todos estos componentes pueden aumentar o disminuir el rendimiento del almidón resistente. Escarpa, et al. (1997); Eerlingen, et al. (1994) encontraron que todos estos componentes dependiendo de su concentración son como modifican la formación del componente en estudio.



A. OBJETIVO GENERAL.

- ❖ Conocer el efecto que se produce en el contenido de fibra dietética y almidón resistente en dos cereales, dos leguminosas y dos tubérculos al someterlos a cocción convencional.

B. OBJETIVOS PARTICULARES.

- ❖ Determinar el efecto de cocción convencional en el contenido de fibra dietética y almidón resistente en arroz y maíz utilizando un método enzimático-gravimétrico y un método enzimático-espectrofotométrico respectivamente.
- ❖ Conocer el efecto de cocción convencional en el contenido de fibra dietética y almidón resistente en frijol negro y garbanzo determinándolo por un método enzimático-gravimétrico y un método enzimático-espectrofotométrico respectivamente.
- ❖ Identificar el efecto de cocción en el contenido de fibra dietética y almidón resistente en papa y camote determinándolo por un método enzimático-gravimétrico y un método enzimático-espectrofotométrico respectivamente.
- ❖ Comparar el contenido de fibra dietética y almidón resistente entre las muestras de cereales, leguminosas y tubérculos, para conocer si el tipo de almidón



estudiado se afecta de diferente manera, es decir si existen diferencias notables en el contenido de estos y por lo tanto en el aporte nutricional.

- ❖ Realizar el análisis estadístico para identificar si existe diferencia significativa y por lo tanto determinar si el método de cocción afecta el contenido de fibra dietética y almidón resistente de igual manera en los tres grupos de alimentos.



V HIPÓTESIS.

La fibra dietética y el almidón resistente en las muestras cocidas de los cereales, leguminosas y tubérculos, estudiados en el presente trabajo, aumentaran de diferente forma con respecto a las muestras crudas.



VI ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Para cumplir con los objetivos y comprobar las hipótesis propuestas se presentan los siguientes esquemas de las metodologías utilizadas en el presente trabajo y que corresponden a las figuras 10, 11 y 12.

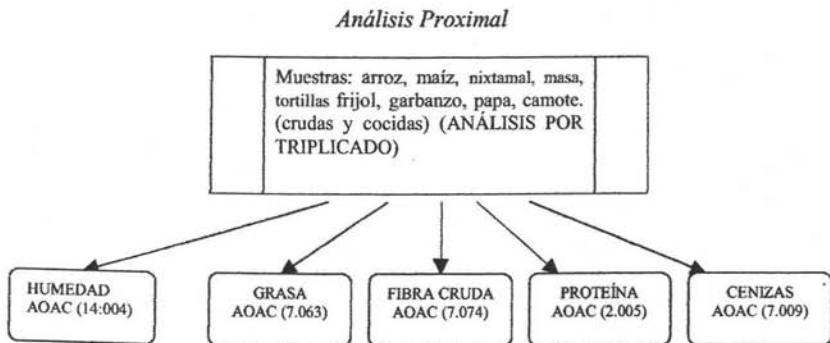


Figura 10. Esquema del análisis proximal en las muestras de arroz, maíz, nixtamal, masa, tortillas; frijol, garbanzo, papa, camote (crudos y cocidos).

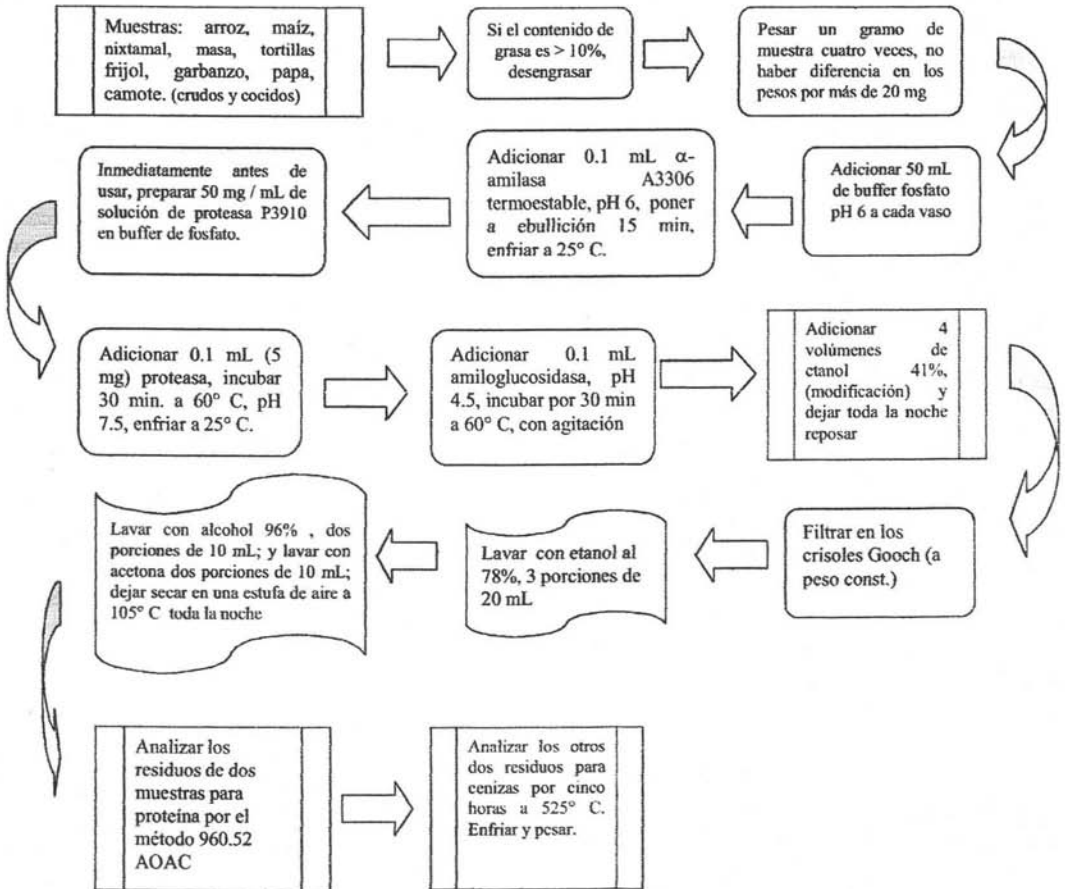


Figura 11. Esquema de la Determinación de Fibra Dietética (Método publicado en la 16^{va} Edición, Volumen II, Sección 45.4.0, método 985.29 AOAC 1995, modificada por Almanzan & Zhou, 1994))

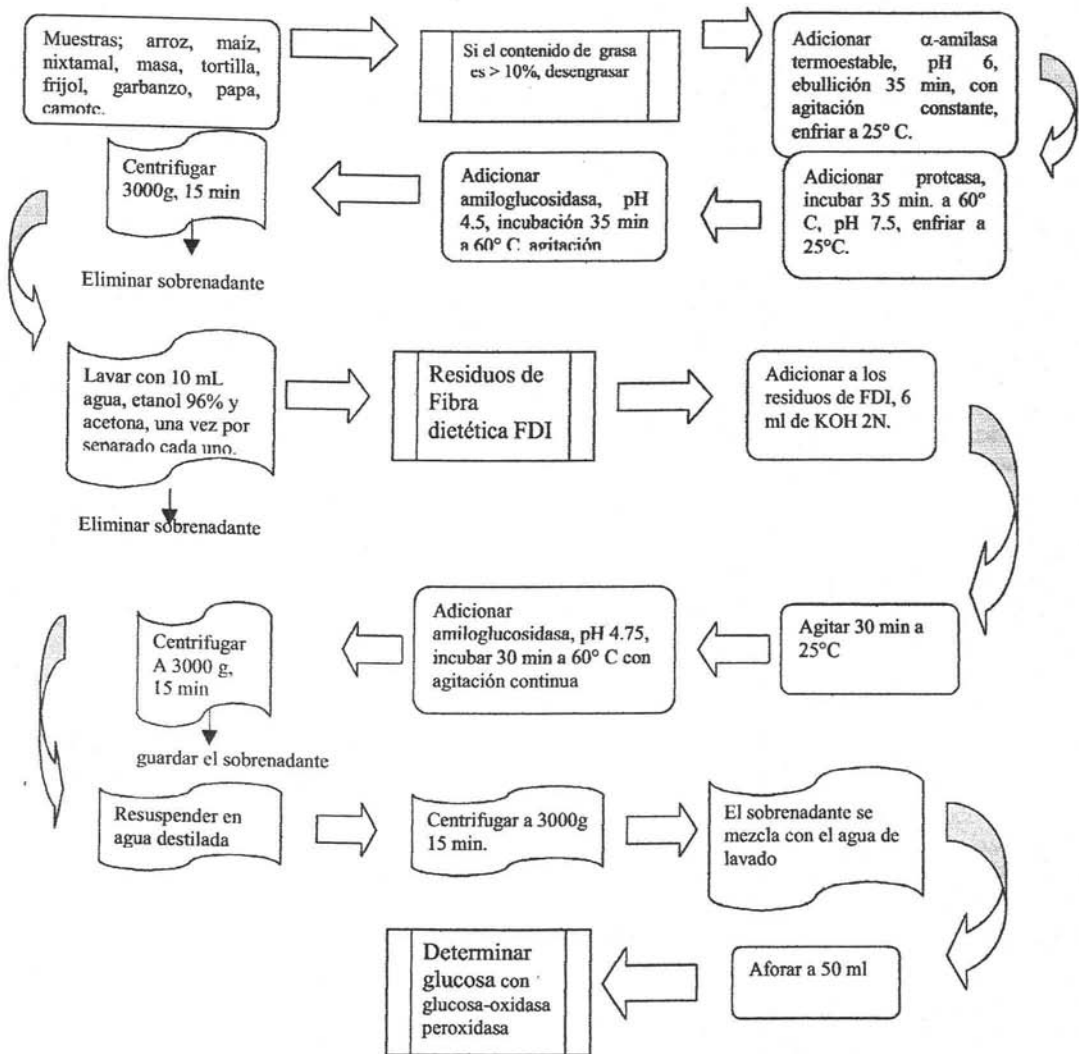


Figura 12. Esquema de la determinación de Almidón Resistente, según el procedimiento de Saura-Calixto (1993)



VII MUESTRAS Y METODOLOGÍAS

A. MATERIAS PRIMAS.

1. *Arroz. (GREAT VALUE)*, arroz super extra, Lote: WMAD-11, grano largo.
El arroz se compró en un centro comercial, "Wall Mart".
2. *Maíz.* Se obtuvo el maíz, nixtamal, masa y tortillas de "Industrias del maíz Puebla", ubicado en: Fernando Montes de Oca, Colonia Niños Héroes, México D. F., fueron obtenidos el día 25 de agosto de 2003 a las 9:15 am.
3. *Frijol. (VALLE VERDE)*, Querétaro, cosecha 2003. El frijol se compró en un centro comercial, "Wall Mart".
4. *Garbanzo.* El garbanzo fue comprado a granel, en una placita de la Colonia Portales Ote. Delegación Benito Juárez, el día 31-agosto-2003.
5. *Papa.* Comprada por kilo del mercado de "Portales", ubicado en la colonia San Simón, México D. F.
6. *Camote.* Comprada por kilo del mercado de "Portales", ubicado en la colonia San Simón, México D. F.

B. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. *Arroz.* El arroz crudo se divide en dos partes iguales, la parte cruda es pasada por un molino Wiley- Model 4 [Arthur H. Thomas Company] por una malla de 1mm (parte de esta harina se muele en un mortero y se pasa por una malla de 0.5 mm, para la determinación de fibra dietaria y almidón resistente), la harina es almacenada a temperatura ambiente. La segunda parte cruda, es cocida procediendo de la siguiente manera: se coloca en un matraz Erlenmeyer



de 2 L en una porción de agua de 1:2, se introduce el matraz al autoclave a una presión de 15 lb / 121° C por 5 minutos, una vez cocido el arroz se drena, se desecha el agua de cocción y el arroz es colocado en una estufa de aire IMPERIAL II a una temperatura entre 55 – 60° C; ya seco el arroz se muele con un molino Wiley-Model 4 pasándolo por una malla de 1mm (igualmente, parte de esta harina se muele en un mortero y se pasa por una malla de 0.5 mm para las determinaciones de fibra dietaria y almidón resistente), la harina se almacena a temperatura ambiente.

2. *Maiz*. El maíz se pasa por una malla de 1 mm en un molino Wiley-Model 4 (una porción de la harina obtenida se muele en un mortero, pasándose por una malla de 0.5 mm para las determinaciones de fibra dietaria y almidón resistente), se almacena a temperatura ambiente. El nixtamal, la masa y las tortillas se colocan en una estufa de aire IMPERIAL II-Lab line en una charola cada una, a una temperatura de 45° C, por cuatro días, hasta obtener las muestras secas. Para la obtención de la harina se coloca toda la muestra en el molino Wiley-Model 4, utilizando una malla de 1mm.

3. *Frijol*. El frijol crudo se divide en dos partes iguales, la parte cruda es molida, en el molino Wiley- Model 4 [Arthur H. Thomas Company] utilizando una malla de 1mm, y es almacenado a temperatura ambiente. La segunda parte cruda es cocida procediendo de la siguiente manera: se coloca en un matraz Erlenmeyer de 2 L en una porción de agua de 1:3, se introduce el matraz a la autoclave a una presión de 15 lb / 121° C por 30 minutos, una vez cocido el frijol se drena, se desecha el agua de cocción y el frijol es colocado en una estufa de aire IMPERIAL II a una temperatura entre 55 – 60° C; ya seco el frijol se tritura en un molino Wiley-Model 4 pasándolo por una malla de 1mm y se almacena a temperatura ambiente.



4. *Garbanzo*. El garbanzo crudo se divide en dos partes iguales, la parte cruda es molida, por un molino Wiley- Model 4 pasándolo por una malla de 1mm, y es almacenado a temperatura ambiente. La segunda parte cruda es cocida procediendo de la siguiente manera: se coloca en un matraz Erlenmeyer de 2 L en una porción de agua de 1:3, se introduce el matraz a la autoclave a una presión de 15 lb / 121° C por 5 minutos, una vez cocido el garbanzo se drena, se desecha el agua de cocción y el garbanzo es colocado en una estufa de aire IMPERIAL II a una temperatura entre 55 – 60° C; ya seco el garbanzo se muele con un molino Wiley-Model 4 utilizando una malla de 1mm y se almacena a temperatura ambiente.

* Una fracción (aprox. de 10 g) de la harina obtenida anteriormente con la malla de 1mm del nixtamal, masa, tortillas, frijol y garbanzo (crudos y cocidos), fue molida en un mortero para posteriormente ser pasada por una malla de 0.5 mm para su uso en las determinaciones de fibra dietética total y almidón resistente, tal y como lo especifican las técnicas.

5. *Papa*. Se compró un kilo de papa, este se divide en dos porciones, la porción cruda es liofilizada¹ de la siguiente forma (con todo y cáscara):

Preparación de la liofilizadora.- Se utilizó una liofilizadora LABCONCO. Se prende el refrigerador para que llegue a una temperatura de $\leq 50^{\circ}$ C. Una vez que llegue a esta temperatura se prende la bomba y la presión debe de llegar a $\leq 25\mu\text{m Hg}$.

Preparación de la muestra.- Se pica finamente la papa, se coloca en vasos para liofilizadora de 600 mL, se les adiciona nitrógeno líquido (hasta cubrir toda la superficie) una vez que la liofilizadora esta a la temperatura y presión mencionada, se colocan los vasos en la liofilizadora y se abre la llave de vacío, de cada uno de los vasos. Terminado el proceso de liofilización, se coloca la muestra en un molino Wiley-Model 4 utilizando una malla de 0.5 mm



y se almacenan a temperatura ambiente. La segunda porción se cuece en una olla, a fuego directo a una temperatura de ebullición por el tiempo que tarde la muestra en estar cocida (que ya no se encuentre dura, aprox. 20 min.), se parte en porciones muy pequeñas; para liofilizar se realiza el mismo procedimiento mencionado anteriormente, una vez liofilizada se coloca en el mismo molino para la obtención de la harina y se almacena a temperatura ambiente.

6. *Camote*. Se compró un kilo de camote, este se divide en dos porciones, la porción cruda es liofilizada de la misma forma que se liofilizó la papa (con todo y cáscara): Se pica finamente el camote, se coloca en vasos para liofilizadora, se les adiciona nitrógeno líquido (hasta cubrir toda la superficie), se colocan los vasos en la liofilizadora y se procede a liofilizar a una temperatura de $\leq 50^{\circ}\text{C}$ y una presión de $\leq 25\ \mu\text{mHg}$.

Una vez liofilizados se pasan por un molino Wiley-Model 4 utilizando una malla de 0.5 mm y se almacenan a temperatura ambiente. La otra parte de camote se cuece en agua a ebullición por el tiempo que se tarde en cocer el camote (aprox. 1h), se liofiliza de igual forma que las muestras de papa.

¹ La papa y el camote es liofilizada, debido a que su secado con calor destruye los componentes de estos, influyendo en el estudio.



C. ANÁLISIS PROXIMAL

Todo el análisis proximal se realiza por triplicado.

1. Determinación de Humedad

Técnica descrita por la AOAC (14:004).

Fundamento

La determinación se basa en la eliminación de agua en forma de vapor mediante la aplicación de calor. Esta pérdida de humedad puede realizarse a presión reducida, abatiéndose el punto de ebullición del agua, y disminuyendo el daño que pueda sufrir la muestra debido a la temperatura elevada.

Material

- Estufa de vacío LAB-LINE mod. 3620
- Charolas de aluminio
- Desecador
- Balanza analítica Sartorius

Procedimiento

Se pesan de 2 a 3 gramos de muestra molida y homogénea en una charola que ha sido previamente pesada después de ponerla a peso constante 2 horas aproximadamente a 60 – 65° C. Secar la muestra 2 horas en la estufa a 60 – 65° C. Retirar de la estufa, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente. Repetir las operaciones de secado hasta peso constante.



Cálculos

Teniendo el peso de la charola con muestra antes y después de secada, y con el peso de la charola sola, se puede hacer la determinación. Generalmente la pérdida del material que se volatiliza bajo estas condiciones, se le acostumbra denominar como humedad.

$$\% \text{ Humedad} = (P_i - P_f / m) 100$$

Donde:

P_i = peso de la charola con muestra antes de secada (en gramos)

P_f = peso de la charola con muestra después de secada (en gramos)

m = peso de la muestra (en gramos)

2. Determinación de Cenizas

Técnica descrita por la AOAC (7.009), primero calcinación a fuego directo hasta eliminación de la materia orgánica y posteriormente calcinación en mufla a 500 – 550°C.

Fundamento

Las cenizas forman el residuo inorgánico que queda después de una incineración de la materia orgánica del alimento. Éstas pueden cuantificarse por medio de una diferencia de pesos después de realizada la incineración.

Material

- Mufla THERMOLYNE, MOD. 1500
- Balanza analítica Sartorius
- Desecador



- Crisoles de porcelana

Procedimiento

Pesar de 3 a 5 gramos de muestra en un crisol previamente pesado, después de ponerlo a peso constante 1 hora aproximadamente en la mufla a 600° C. Calcinar la muestra a fuego directo en una campana hasta que no se desprendan humos y posteriormente llevar a la mufla durante 2 horas cuidando que la temperatura no pase de 550° C. Si después de la incineración se obtienen cenizas con manchas negras, es conveniente adicionarle unas gotitas de agua destilada a estas cenizas una vez que estén frías, hasta conseguir cenizas blancas o ligeramente grises, homogéneas. Enfriar en el desecador y pesar.

Cálculos

El cálculo de cenizas en términos de porcentaje es el siguiente:

$$\% \text{ Cenizas} = (P_f - P_o / m) 100$$

Donde,

P_f = peso del crisol con la muestra después de incinerada (en gramos)

P_o = peso del crisol a peso constante (en gramos)

m = peso de muestra (en gramos)

3. Determinación de Proteína Cruda

El contenido de proteína se determina con el método descrito por la AOAC (2.005), empleando el equipo "Tecator" para medir nitrógeno en proteína. Se presentan las siguientes modificaciones:



- 1) Se emplean de 10 a 100 mg de muestra, 0.5 de K_2SO_4 y 3 ml de mezcla digestiva (3g de $CuSO_4$, 50 ml de H_3PO_4 y 430 ml de H_2SO_4 concentrado);
- 2) Después de 15 minutos en el digestor a una temperatura menor a $370^\circ C$, se quitan los tubos de este y se mantiene a temperatura ambiente 5-10 min. Se adiciona 1.5ml de H_2O_2 al 30%. Se coloca de nueva cuenta en el digestor a $370^\circ C$ hasta que se logra transparencia en la mezcla
- 3) Se realiza la destilación recibiendo en ácido bórico con indicadores (ácido bórico 1%, rojo de metilo 0.7% y 0.1% de verde de bromocresol), titulando con HCl 0.01N valorado.

El objetivo de modificar la mezcla digestiva y utilizar peróxido de hidrógeno es lograr la completa oxidación de la materia orgánica y reducir la pérdida de nitrógeno por formación de aminas o nitrógeno libre, favoreciendo la formación de sulfato ácido de amonio. Se realizará el mismo tratamiento con caseína (88.88% de proteína) para corroborar que los reactivos estén preparados adecuadamente y no causen error en la determinación. Se utiliza como blanco glucosa para corregir el valor de la titulación.

Fundamento

El método de kjeldahl se basa en la digestión completa de la muestra con ácido sulfúrico concentrado y ácido fosfórico, utilizando sulfato de cobre como catalizador; de esta forma se produce una sal de sulfato ácido de amonio.

Digestión.



Añadiendo posteriormente álcali al digerido se libera amoniacó,

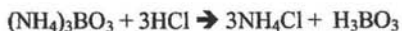
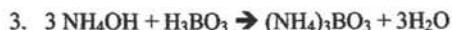


Destilación



que entonces puede ser destilado y fijado en una solución de ácido bórico formándose borato de amonio, el cual es titulado con una solución valorada de ácido clorhídrico.

Titulación



Este método no mide directamente la proteína, sino que utiliza un factor empírico para convertir el nitrógeno en proteína, el cual es 6.25.

Material y Reactivos

- Digestor TECATOR mod. Ab – 20 / 40
- Autoanalizador de proteína TECATOR mod. 1030
- Tubos de digestión TECATOR de 75 mL
- Balanza analítica Sartorius
- Mezcla digestiva (a)
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Sulfato de potasio R.A.
- Solución de hidróxido de sodio al 40%
- Solución de ácido bórico al 1% con indicadores (b)
- Solución de ácido clorhídrico 0.01 N valorada



- a) Mezcla digestiva: disolver 3g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 20 ml de agua destilada; agregar 50 ml de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) una vez disuelta la sal adicionar cuidadosamente 430 mL de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Agitar la mezcla durante 30 minutos aproximadamente.
- b) Solución de ácido bórico con indicadores: se pesan 10g de ácido bórico en 2L de H_2O destilada, se agregan 10 mL de verde de bromocresol (100 mg en 100 mL de CH_3OH) más 7 mL de rojo de metilo (100 mg en 100 mL de CH_3OH). Para ajustar la solución, tomar 25 mL de ácido bórico con indicadores y mezclarlos con 100 mL de agua destilada. La solución debe dar un tono gris, si persiste el color rojo inicial, ajustar con solución de NaOH 0.1 N hasta obtener el color gris-vire ($\text{mL NaOH 0.1 N} = \text{mL título} \times 40$). Una vez calculada la cantidad de NaOH 0.1 N necesaria, agregar el volumen calculado al ácido bórico y agitar.

Procedimiento

Tomar 10 a 100 mg de muestra (dependiendo de la cantidad de proteína presente en la misma) en un papel delgado. Introducir en un tubo de digestión, agregar 0.5 g de sulfato de potasio y 3 ml de mezcla digestiva. Colocar el tubo en el digestor a 370°C durante 15 minutos. Sacar el tubo del digestor, dejar enfriar y adicionar 1.5 mL de peróxido de hidrógeno al 30% y colocar nuevamente en el digestor hasta la total destrucción de la materia orgánica, es decir, hasta que el líquido quede con una coloración azul verdosa.

Se deja enfriar el tubo hasta temperatura ambiente y se procede a destilar y titular en el equipo correspondiente.



Antes de utilizar el aparato se deben revisar los niveles de todos los reactivos que serán utilizados para la destilación (sosa y agua destilada) y posterior titulación (ácido bórico y ácido clorhídrico), la llave del agua debe estar abierta. Una vez encendido el equipo, se debe llenar la tubería con ácido bórico para desplazar el ácido que se haya acumulado en el vaso de titulación. El reactivo debe salir de color rojo. A continuación, introducir un tubo sin muestra en el sitio correspondiente y cerrar la puesta de seguridad; esperar a que el vapor sea generado, dejar destilar dos veces y sacar el tubo. Posteriormente, pueden introducirse los tubos con muestra a los cuales se les ha agregado previamente 25 ml de agua destilada. Al colocar los tubos, deben introducirse primero los blancos y después las muestras. El equipo proporciona de manera automática el volumen de HCl 0.01 N gastado en la titulación; anotar este volumen. Finalmente, después del último tubo con muestra, introducir un tubo con agua y destilar.

Cálculos

$$\% N = ((V_m - V_b) (0.014 \text{ g/ meq}) ([\text{HCl N}]) / P_m) 100$$

$$\% P = \% N * 6.25$$

Donde,

V_b = mL gastados de ácido clorhídrico en el tubo blanco

V_m = mL gastados de ácido clorhídrico en el tubo que contiene la muestra

[HCL N] = concentración del ácido que previamente se valoró

P_m = peso de la muestra en gramos



4. Determinación de Grasa Cruda

Técnica descrita por la AOAC (7.063)

Fundamento

La determinación se basa en la solubilidad de las grasas en éter petróleo, el cual al ser calentado se volatiliza y al hacer contacto con una superficie fría se condensa y pasa a través de la muestra extrayendo sustancias solubles en el éter. Finalmente, el éter se evapora y en el vaso queda el residuo conocido como grasa cruda, el cual contiene la mezcla cruda del material lipídico.

Material y Equipo

- Equipo para desengrasar Goldfish marca LABCONCO
- Balanza Ohaus A5200
- Estufa al vacío Lab-line, mod. 3620
- Cartuchos de celulosa 22 x 80 mm
- Vasos de borde esmerilado Kimax
- Éter petróleo R.A.

Procedimiento

Tomar 2 a 5 g de muestra seca en un cartucho de celulosa y tapar con un algodón. Situando el cartucho en un sostén con el fondo perforado y colocarlo en el seguro metálico del aparato. Adicionar 50 mL de éter petróleo en un vaso para Goldfish puesto previamente a peso constante en la estufa de aire SINGLE-WALL y colocarlo en el equipo mediante un anillo de fierro con empaque de hule. Subir la parrilla hasta que quede en contacto con el vaso y abrir la



llave del agua para que ésta circule sobre los refrigerantes. Calentar moderadamente hasta extracción completa de la grasa. Para verificar que se ha extraído toda la grasa, dejar caer una gota de la descarga sobre papel filtro; al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Una vez finalizada la extracción, se bajan las parrillas de calentamiento, se retira el portadetal con el cartucho y se sustituye por el recipiente de recuperación, el vaso se calienta nuevamente para eliminar el éter del mismo, el cual es retenido en el recuperador. Después de eliminado el éter de petróleo se colocan los vasos en la estufa al vacío hasta peso constante.

Cálculos

$$\% \text{ Grasa cruda} = ((P_g - P_v) / p_m) 100 =$$

Donde,

P_g = peso del vaso más el peso de la grasa (en gramos)

P_v = peso constante del vaso (en gramos)

p_m = peso total de la muestra (en gramos)

5. Determinación de Fibra Cruda

Técnica descrita por la AOAC (7.074)

Fundamento

Esta técnica se basa en la digestión de toda la materia orgánica exceptuando la fibra y cenizas mediante un tratamiento químico, calentando la muestra primeramente con ácido sulfúrico al 1.25% y posteriormente con hidróxido de sodio al 1.25%; el residuo sobrante se somete a la incineración del material insoluble que por diferencia se obtendrá el porcentaje de fibra cruda.



Material y Reactivos

- Vasos de Berzelius de 600 mL Kimax
- Aparato de digestión LABCONCO
- Estufa de aire SINGLE-WALL
- Mufla THERMOLYNE, mod 1500
- Crisoles de porcelana
- Silicato de Aluminio
- Antiespumante (emulsión SIGMA-B)
- Perlas de ebullición
- Kitasato Kimax
- Buchner tipo California para fibra cruda
- Alcohol etílico R.A.
- Solución de H_2SO_4 al 1.25% (p/v)
- Solución de NaOH al 1.25% (p/v)

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Procedimiento

Se pesan de 3–5 g de muestra desengrasada sobre un vaso de Berzelius que contenga 0.5 g de silicato de aluminio, unas perlas de ebullición y unas gotas de antiespumante. A continuación se le adicionan 200 mL de ácido sulfúrico 1.25 % (p/v) ya que haya hervido, e inmediatamente se coloca en el aparato de digestión, el cual debe estar previamente caliente; se deja digerir por espacio de 30 minutos exactos. Después de dicho período se vacía el contenido sobre un buchner tipo California y se realiza la filtración con ayuda de vacío; se lava el residuo



con agua destilada caliente, hasta eliminar el ácido (aprox. 500 mL). Una vez lavado el residuo se transfiere nuevamente al vaso Berzelius, se le adiciona unas gotas de antiespumante y 200 mL de NaOH 1.25% (p/v) una vez que haya hervido y se mantiene en el aparato de digestión por exactamente 30 minutos. Transcurrido el tiempo se vacía nuevamente al buchner y se filtra, lavando el residuo con agua caliente (aprox. 500 mL), hasta eliminar el álcali y también quitar las perlas de ebullición lavándolas con agua para recuperar el material adherido. Por último se le adiciona al residuo 25 mL de alcohol etílico.

El residuo se pasa a un crisol de porcelana (a peso constante) cuidando de pasarlo en forma cuantitativa. Se coloca en la estufa de aire para su secado (aprox. 4 – 8 horas) y después se pesa P_r . A continuación se carboniza y se introduce en la mufla para su incineración, para después de realizada dicha operación volver a pesar el crisol P_c .

Cálculos

$$\% \text{ Fc} = (P_r - P_c / P_m) 100 =$$

donde,

P_r = peso del crisol más residuo (en gramos)

P_c = peso del crisol más cenizas (en gramos)

P_m = peso de la muestra (en gramos)



D. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

1. Determinación de Fibra Dietética

Método Oficial de Análisis de la Internacional AOAC, 16th Edición, Volumen II, Sección 45.4.07, Método 985.29 (1995) – (Modificado por Almanzan & Zhou, 1994)

1.1 Fundamento

Por este método se determina la fibra dietética total contenida en los alimentos usando un método enzimático - gravimétrico. La muestra es secada, desengrasada y gelatinizada con la enzima termoestable α -amilasa y posteriormente la digestión con proteasa y amiloglucosidasa para la remoción de proteínas y almidón. El etanol es adicionado para precipitar la fibra dietaria soluble. El residuo es entonces filtrado y lavado con etanol y acetona. Uno de los duplicados es analizado por proteína y el otro es incinerado a 525° C. El total de la fibra dietética es el peso del residuo menos el peso de la proteína, cenizas y blanco.

1.2 Material y Reactivos

TDF-100A Kit: SIGMA. St. Louis MD USA

1. α -amilasa, termoestable No. A3306.
2. Proteasa No. P3910.
3. Amiloglucosidasa No. C8656.
4. Celita No C8656.



TDF – C10 Kit: SIGMA. St. Louis MD USA

1. Arabino galactano No. A9788.
2. Caseína No. C7906.
3. β -Glucano No. G7391.
4. Pectina No. P7536.
5. Almidón de maíz No. S2388.
6. Almidón de Trigo No. S1514.

Reactivos

1. Etanol 98% (v/v), grado técnico. Etanol 78% y etanol 41% (Ver instrucciones de preparación)
2. Agua destilada.
2. Acetona, R. A.
3. Fosfato de sodio dibásico heptahidratado; Baker 3824.
4. Fosfato de sodio monobásico, anhidro; Merck 6346.
5. Hidróxido de sodio 0.1 N; Baker. Solución de hidróxido de sodio 0.275 N (Ver instrucciones de preparación)
6. Ácido clorhídrico 0.1N; Baker. Solución de ácido clorhídrico 0.325 N (Ver instrucciones de preparación)

Equipo

1. Estufa de aire SINGLE - WALL.
2. Desecador.
3. Mufla THERMOLYNE, mod. 1500



4. Baño con agua a ebullición.
5. Baño de Agua a 60° C con agitación; LAB – LINE INSTRUMENTS, INC. mod. 29391.
6. Balanza Analítica SARTORIUS.
7. Balanza Analítica OHAUS, mod. A5200.
8. Potenciómetro CORNING 430.
9. Crisoles PIREX, catalogo VWR 2000 / 2001 Merck, C427; coming 32960 No. 30 C.

1.3 Instrucciones de Preparación

Crisoles

Lavar los crisoles, calentar los crisoles una hora a una temperatura de 525° C y enfriar. Adicionar 0.5 gramos de celita a cada crisol y secar a 130° C hasta peso constante (una hora o más.) Enfriar en el desecador y pesar. Registrar este peso como “ celita + peso del crisol” o P₁. Dejar en el desecador hasta que se necesiten.

Muestra

Si el contenido de grasa de la muestra es mayor a 10%, desengrasar con éter de petróleo como se describe en el método de la AOAC (7.063).

Homogeneizar cada muestra, si es necesario y secarla toda la noche en una estufa de aire a 105° C. Enfriar en el desecador, la muestra seca molerla y pasarla por una malla de 0.3 a 0.5 mm. Si no se cuenta con un molino, molerla en un mortero, esto será suficiente.



Reactivos

Usar agua destilada o desionizada para preparar las soluciones.

1. Etanol 78%

Preparar como se describe en la metodología de la AOAC 985.29, colocando 207 mL de agua en un matraz aforado de un litro. Diluir el volumen con etanol al 95%, aforar y mezclar. Ajustar el aforo si fuera necesario con etanol 95%. Se almacena a una temperatura de refrigeración.

2. Etanol 41%

Se miden 427.1 mL de etanol 95% y se afora con agua destilada en un matraz de un litro, se mezclan, se deja reposar y si es necesario se vuelve aforar con el agua destilada. Se guarda a temperatura de refrigeración

3. Buffer fosfatos, 0.08 M, pH 6.0

Disolver 1.4 g de Na_2HPO_4 y 8.4 g de NaH_2PO_4 , en aproximadamente 700 mL de agua. Diluir en un litro de agua. Ajustar el pH y si es necesario adicionando NaOH o H_3PO_4 y guardar.

4. Solución de hidróxido de sodio 0.275 N

Diluir 275 mL de la solución de NaOH 0.1 N en un litro con agua en un matraz volumétrico, guardar.

5. Solución de ácido clorhídrico 0.325 N

Diluir 325 mL de la solución de HCl 0.1 M en un litro con agua en un matraz volumétrico, guardar.



1.4 Procedimiento

- 1) Pesar 1 g de muestra por cuadruplicado en vasos de precipitado de 100 mL, las muestras no deben diferir por más de 20 mg; se hace correr un blanco por cuadruplicado al mismo tiempo que la muestra.
- 2) Adicionar 50 ml de buffer de fosfatos 0.08 M a pH 6.0.
- 3) Ajustar a pH 6.0 ± 0.2 con NaOH 0.275 N o HCl 0.325 N, si es necesario.
- 4) Adicionar 0.1 ml de α -amilasa termoestable A3306 y mezclar.
- 5) Cubrir los vasos con aluminio y colocarlos en un baño de agua a ebullición. Agitar los vasos por intervalos de 5 minutos. Incubar por 15 minutos después de que la temperatura interna de los vasos haya llegado entre 83°C y 90°C .
- 6) Enfriar a temperatura ambiente (25°C).
- 7) Ajustar el pH a 7.5 ± 0.1 por adición de 10 mL de NaOH 0.275 N, si es necesario ajustar con NaOH o HCl.
- 8) Inmediatamente antes de usar preparar la solución de proteasa, P3910, 50 mg / ml de buffer de fosfatos 0.08 M. Adicionar 0.1 mL (5 mg de proteasa) en cada vaso.
- 9) Cubrir cada vaso con aluminio y colocarlos en un baño de agua a 60°C . Incubar por 30 minutos contados después de que los vasos alcancen la temperatura interna de 60°C .
- 10) Enfriar a temperatura ambiente (25°C).
- 11) Ajustar el pH entre 4.0 y 4.6 adicionando 10 mL de HCl 0.325N a cada vaso. Ajustar si es necesario con NaOH o HCl.



- 12) Adicionar 0.1 mL amilogucosidasa, A9913, a cada vaso.
- 13) Cubrir con aluminio cada vaso, colocarlos en el baño a 60° C. Con agitación continua, incubar 30 minutos después de que la temperatura interna del vaso alcance los 60° C.
- 14) Adicionar 4 volúmenes de etanol al 41% (Modificación)
- 15) Dejar toda la noche a que precipite, a temperatura ambiente.
- 16) Filtración: transferir el precipitado y la suspensión a cada vaso. Lavar el residuo con tres porciones de 20 ml de etanol a 78%, dos porciones de 10 ml de etanol al 95% y dos porciones de 10 ml de acetona.
- 17) Secar los residuos obtenidos durante toda la noche en estufa de aire a 95° C.
- 18) Enfriar todos los crisoles en el desecador, pesar, registrar el peso como “ Residuo + celita + peso del crisol” o peso P₂
- 19) Dos de cuatro residuos, se analizan por el método Kjeldahl especificado en la AOAC (2.005). Usar 6.25 como factor de conversión a porcentaje de proteína.
- 20) Las cenizas se obtienen de la incineración de los otros dos crisoles con residuo y dos blancos por 5 horas a 525° C. Enfriar en el desecador y registrar este peso como “Cenizas + celita + peso del crisol” o P₃.
- 21) El contenido de fibra dietética total debe ser corregido con el valor de almidón resistente el cual es determinado como parte de la fibra dietética insoluble.



1.5 Cálculos

$$\text{Peso del residuo} = P_1 - P_2 =$$

$$\text{Peso de Cenizas} = P_3 - P_1 =$$

$$B = R_{\text{blanco}} - P_{\text{blanco}} - A_{\text{blanco}} =$$

B = Blanco

R_{blanco} = promedio del peso del residuo del blanco (mg)

P_{blanco} = promedio del peso de proteína del blanco (mg)*

A_{blanco} = promedio del peso de cenizas del blanco (mg)

$$\% \text{ FDT} = ((R_{\text{muestra}} - P_{\text{muestra}} - A_{\text{muestra}} - B)/PM) \times 100 =$$

R_{muestra} = peso del residuo de la muestra (mg)

P_{muestra} = promedio del peso de proteína de la muestra (mg)*

A_{muestra} = Promedio del peso de cenizas de la muestra (mg)

PM = Peso de la muestra (mg)

* Los cálculos para obtener el porcentaje de proteína son especificados en la sección de la misma.

2. Determinación de Almidón Resistente

(Según el método Saura-Calixto et al, 1993)

2.1 Fundamento

El almidón resistente se cuantifica primeramente con una digestión enzimática en donde se cortan las cadenas de almidón, y de almidón unidas a proteínas. Posteriormente se realiza un lavado con agua, etanol y acetona para eliminar la fibra soluble, quedándose solamente los



residuos de fibra insoluble. Nuevamente existe otra digestión para liberar monómeros de glucosa que son cuantificados por un método enzimático-espectrofotométrico.

2.2. Material y Reactivos

SIGMA. St. Louis MD USA

1. α -amilasa, termoestable No. A3306.
2. Proteasa No. P3910.
3. Amiloglucosidasa No. C8656.
4. Amiloglucosidasa Boehringer Mannheim No. 102857
5. Glucosa (oxidasa); Hycel, No. 70408.
6. Glucosa
7. Etanol 98% (v/v), grado técnico.
8. Fosfato de sodio dibásico heptahidratado; Baker 3824.
9. Fosfato de sodio monobásico; Merck 6346.
10. Acido acético glacial; Baker 9507-05.
11. Acetato de sodio (polvo anhidro); Baker 3470.
12. Acetona, R.A.
13. Solución de hidróxido de sodio 0.275 N (ver en instrucciones de preparación de la sección de fibra dietética)
14. Solución de ácido clorhídrico 0.375 N (ver en instrucciones de preparación de la sección de fibra dietética)
15. KOH 2N (Ver instrucciones de preparación)



Equipo

1. Baño de agua a ebullición.
2. Baño de agua a temperatura de 60° C, LAB – LINE INSTRUMENTES INC.
3. Balanza Analítica SARTORIUS.
4. Potenciómetro CORNING 430.
5. Centrífuga SUPER-MIXER, mod 1290, LAB-LINE INTSTRUMENT
6. Baño de agua a temperatura 37° C LAB-LINE
7. Espectrofotómetro SEQUOIA-TURNER, mod 540

2.3 Instrucciones de Preparación

Reactivos

1. Buffer de acetatos 0.4 M, pH 4.75.

Se prepara el acetato de sodio y el ácido acético glacial por separado a la concentración deseada.

- a) *Preparación de la solución ácido acético glacial 0.4 N.*

Se toman 25.24 mL de ácido acético glacial y se aforan con agua destilada a un litro, se deja reposar.

- b) *Preparación de la solución de acetato de sodio 0.4 N.*

Se pesan 32.8 g de acetato de sodio se disuelven con agua destilada y se llevan al aforo de un litro con agua destilada.



Ya preparadas las soluciones colocar 500 mL de la solución de acetato de sodio en un vaso de precipitados de 1000 mL, se mide el pH (en un potenciómetro); agregar lentamente la solución de ácido acético (agitándolo constantemente) hasta llegar al pH deseado.

2. KOH 2N.

Se pesan 2.85 g (aprox.) de KOH, se disuelven con 10 mL de agua desionizada (hasta que se enfríe la solución), se llega a un aforo de 25 mL. * Esta solución se prepara justo antes de su uso.

3. Glucosa (Oxidasa / peroxidasa).

El reactivo se reconstituye con 500 mL de agua desionizada, se deja reposar y se guarda a una temperatura de refrigeración.

4. Solución de glucosa 1mg / mL.

Se coloca un poco de glucosa en la estufa de vacío por un día; al siguiente día se pesan 50 mg / 50 mL con agua destilada.

2.4 Procedimiento

- 1) Pesar 100 mg. de muestra por duplicado en tubos de centrifuga.
- 2) Adicionar 10 ml de buffer de fosfatos 0.08 M a pH 6.0.
- 3) Ajustar a $\text{pH } 6.0 \pm 0.2$ con NaOH 0.275 N o HCl 0.325 N.
- 4) Adicionar 10 μl de α -amilasa termoestable, poner a ebullición por 35 minutos con agitación constante y enfriar a temperatura ambiente (25°C).
- 5) Ajustar el pH a 7.5 ± 0.1 con NaOH 0.275 N.
- 6) Preparar la solución de proteasa 10 mg / ml de buffer de fosfatos 0.08 M.



- 7) Adicionar 10 μ l de la solución, incubar por 35 minutos a 60° C con agitación continua. Enfriar a temperatura ambiente (25° C).
- 8) Ajustar el pH a 4.5 ± 0.1 con HCl 0.325 N.
- 9) Adicionar 60 μ l de amiloglucosidasa, incubar 35 minutos a 60° C con agitación continua, Centrifugar por 15 minutos a 3000 rpm y eliminar el sobrenadante.
- 10) Lavar con 10 mL de agua, etanol 95% y acetona por separado cada uno y descartar el sobrenadante y aquí se obtienen los residuos de la fibra dietética.
- 11) Adicionar a los residuos de fibra dietética 6 ml de KOH 2 N.
- 12) Agitar por 30 minutos a temperatura ambiente.
- 13) Adicionar 3 ml de buffer de acetatos 0.04 M a pH 4.75.
- 14) Ajustar a pH 4.75 con HCl 2N. Adicionar 60 μ l de amiloglucosidasa, incubar 30 minutos a 60° c con agitación continua, centrifugar por 15 minutos a 3000 g y coleccionar los sobrenadantes.
- 15) Resuspender en 10 ml de agua destilada, centrifugar por 15 minutos a 3000 g y el sobrenadante se mezcla con el agua de lavado.
- 16) Aforar a 50 mL con agua destilada.
- 17) Determinar glucosa con glucosa (oxidasa-peroxidasa).
 - a) Preparar una curva patrón a partir de la solución de glucosa 1 mg/ mL; las concentraciones a preparar son: 0 mg / mL; segundo tubo 0.05 mg / mL; tercer tubo, 0.15 mg / mL y cuarto tubo 0.25 mg / mL. Para obtener estas concentraciones tomar de



la solución de glucosa (1mg / mL) 0 mL, 0.5 mL, 1.5 mL y 2.5 mL y se aforan a 10 mL.

- b) Se etiquetan los tubos para la curva patrón y se les añade 2.5 mL del reactivo de glucosa (oxidasa/peroxidasa) a cada tubo y se preincubar a 37° C.
- c) También se etiquetan 3 tubos para uno de los duplicados (en total deben ser 6 tubos por muestra) y se les adiciona 2.5 mL del reactivo de glucosa (oxidasa/peroxidasa) a cada tubo correspondiente y se preincubar a 37° C.
- d) Una vez preincubados todos los tubos, añadir 200 µL de agua al tubo etiquetado como blanco, tomar 200µL de cada matraz de la curva (preparados en el punto a) y adicionarlos a su tubo correspondiente, tomar 200 µL de cada duplicado por triplicado y adicionarlos a los tubos utilizados en el punto c.
- e) Incubarlos a 37° C por 10 minutos.
- f) Transcurridos los 10 minutos leer a 520 nm.

18) Cuantificar el almidón resistente como glucosa (mg) x 0.9.

2.5 Cálculos

$$C \text{ (mg / mL)} * 50 \text{ mL} * 0.9 = \text{mg de glucosa,}$$

donde,

$$0.9 = \text{Peso molecular del almidón (g/mol)} / \text{peso molecular de glucosa (g/mol)}$$



C = concentración obtenida de la curva patrón en mg / mL

50 mL = aforo de la muestra

$$\text{mg de glucosa} * 100 \text{ mg alimento} / P \text{ (mg de muestra)} = \% \text{ de A. R.}$$

donde,

P = peso de la muestra expresado en mg.

% A. R. = porcentaje de almidón resistente.

E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados del análisis proximal son expresados con la media \pm desviación estándar y C. V. ≤ 15 , la comparación de la media fue evaluada mediante un análisis de varianza de un factor ($\alpha \leq 0.01$).

Los datos de fibra dietética son expresados con la media \pm desviación estándar de cuatro determinaciones y C.V. ≤ 10 . La comparación de la media de muestras crudas y cocidas se realizó por un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$; la comparación de la media de todas muestra se realizó también por un análisis de varianza de un factor (ANOVA), $\alpha = 0.05$ seguido de una prueba de rango múltiple de Duncan.

Los datos de almidón resistente son expresados con la media \pm desviación estándar de seis repeticiones de dos determinaciones y CV. ≤ 15 . Se utilizó un análisis de varianza de un factor ($\alpha = 0.05$) para la comparación de la media de las muestras crudas y cocidas. La comparación de la media de todas las muestra fue analizada por un ANOVA de un factor ($\alpha = 0.001$) seguido de una prueba rango múltiple de Duncan (Mongomery, 1996)



VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ANÁLISIS PROXIMAL

En la cuadro 4 se presentan los resultados del análisis proximal de los cereales en base húmeda que incluyen el maíz y sus variedades cocidas. Cuando el maíz es cocido para preparar tortillas el contenido de humedad incrementa de forma significativa del maíz crudo a la masa, sin embargo el valor de humedad se ve disminuido ligeramente por el tratamiento térmico que conlleva la preparación de estas. Debido a este aumento en el porcentaje de humedad los demás componentes disminuyen drásticamente en comparación con la muestra cruda, por lo tanto su comparación en base húmeda carece de importancia. El porcentaje de humedad para el maíz y la tortilla reportados por Chávez, et al (1997) en base húmeda es muy similar al obtenido en este estudio.

Los valores de proteína para el maíz y nixtamal reportados por Chávez, et al. (1997) son un poco mayores a los obtenidos, siendo estos de 8.3% y 9.33% respectivamente, mientras que los valores de tortilla es igual al reportado aquí. Los valores de grasa y fibra son muy diferentes a los que reporta Chávez, et al (1997), ellos reportan valores de grasa del 4.8, 4.5 y 1.8% para maíz amarillo, nixtamal y tortilla respectivamente y en el caso de la fibra de 12.2, 9.5 y 2.09% para las mismas muestras.

Al igual que en el maíz, al cocer el arroz aumenta su porcentaje de humedad y por lo tanto disminuyen sus demás componentes. Los valores obtenidos concuerdan con los reportados por Chávez et al, (1997), aunque en el porcentaje de grasa es menor en este estudio.

Cuadro 4. Tabla de composición química de los cereales (base húmeda)^a
(g/100 g de muestra)

Muestras	Humedad ^a	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra cruda	Carbohidratos ^c
Maíz	11.56 ± 0.06	7.66 ± 0.24	2.38 ± 0.081	1.29 ± 0.08	1.22 ± 0.09	75.89
Nixtamal	54.07 ± 0.30	4.29 ± 0.03	0.20 ± 0.03	0.97 ± 0.01	0.92 ± 0.12	39.55
Masa	55.10 ± 0.09	4.15 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.89 ± 0.02	1.02 ± 0.04	38.64
Tortilla	46.43 ± 0.05	4.61 ± 0.07	0.23 ± 0.04	1.13 ± 0.06	1.10 ± 0.06	46.51
Arroz crudo	11.77 ± 0.07	7.60 ± 0.20	0.65 ± 0.10	0.73 ± 0.07	0.45 ± 0.07	78.8
Arroz cocido	70.42 ± 0.04	2.01 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.11 ± 0.01	23.28

^a Promedio ± D.E.; C. V. ≤ 15 ; n=3

^b N x 6.25

^c Calculados por diferencia

Para el caso de las leguminosas, sucede lo mismo, como se podrá observar en el cuadro 5, donde el porcentaje de humedad es mucho mayor en las muestras cocidas, disminuyendo el porcentaje de los componentes restantes. Este estudio concuerda con los resultados expuestos por Perez- Hidalgo et al, (1996) quién reporta el análisis proximal del garbanzo cocido.

Cuadro 5. Tabla de composición química de las leguminosas (base húmeda)^a
(g/100 g de muestra)

Muestras	Humedad ^a	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra cruda	Carbohidratos ^c
Frijol crudo	8.31 ± 0.10	18.24 ± 0.2	0.85 ± 0.1	3.67 ± 0.10	6.21 ± 0.30	62.72
Frijol cocido	63.60 ± 0.12	7.77 ± 0.09	0.14 ± 0.01	1.30 ± 0.07	2.32 ± 0.09	24.88
Garbanzo crudo	7.89 ± 0.01	20.93 ± 0.10	4.32 ± 0.10	3.23 ± 0.05	3.77 ± 0.37	59.86
Garbanzo cocido	56.46 ± 0.04	10.47 ± 0.09	0.12 ± 0.01	1.13 ± 0.02	1.54 ± 0.16	30.28

^a Promedio ± D.E.; C. V. ≤ 15 ; n=3

^b N x 6.25

^c Calculados por diferencia

El análisis proximal de la papa y camote crudos y cocidos, nos muestra que la humedad permanece casi constante, como puede observarse en el cuadro 6 y por lo tanto sus demás componentes no son afectados debido a que en forma cruda ya es alto el contenido de humedad. Como lo reporta Charley et al (1997), el contenido de humedad es alto es este tipo de alimentos, aunque en ambos el porcentaje es un poco menor al reportado aquí siendo para la papa de 79.8%



y para el camote de 70.6%. Los carbohidratos reportados son mayores (17.1 y 26.3% para la papa y camote respectivamente), para los valores de la fibra ellos reportan como fibra dietética ya que sus valores son mucho mayores a los de fibra cruda obtenidos aquí.

Cuadro 6. Tabla de composición química de los tubérculos (base húmeda)^a
(g/100 g de muestra)

Muestras	Humedad ^a	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra cruda	Carbohidratos ^c
Frijol crudo	8.31 ± 0.10	18.24 ± 0.2	0.85 ± 0.1	3.67 ± 0.10	6.21 ± 0.30	62.72
Frijol cocido	63.60 ± 0.12	7.77 ± 0.09	0.14 ± 0.01	1.30 ± 0.07	2.32 ± 0.09	24.88
Garbanzo crudo	7.89 ± 0.01	20.93 ± 0.10	4.32 ± 0.10	3.23 ± 0.05	3.77 ± 0.37	59.86
Garbanzo cocido	56.46 ± 0.04	10.47 ± 0.09	0.12 ± 0.01	1.13 ± 0.02	1.54 ± 0.16	30.28

^a Promedio ± D.E.; C. V. ≤ 15; n=3

^b N x 6.25

^c Calculados por diferencia

En el cuadro 7 se presenta la composición del análisis proximal en base seca de los cereales, que incluye, maíz, nixtamal, masa y tortilla, en donde se observa que el valor de proteína aumenta del maíz, al nixtamal, presentando una disminución no significativa ($\alpha = 0.01$) del nixtamal a la masa y de nuevo disminuyendo de la masa a la tortilla. El proceso de nixtamalización es el cocimiento del maíz en un medio básico utilizando cal, por lo tanto el aumento inicial en el valor de proteína se podría explicar por la interacción que tal vez tenga la proteína con el calcio, modificando la solubilidad de esta, siendo dependiente este efecto del tratamiento térmico, así como lo observa Sefa-Dedeh, et al (2003) en un estudio realizado para conocer los efectos del proceso de nixtamalización a diferentes concentraciones de cal, cocinando o no el maíz. Chávez et al (1997) también reporta la misma tendencia de aumento de proteína del maíz al nixtamal. La disminución en el valor de proteína de la tortilla, se podría deber a que la masa es sometida a un tratamiento térmico para la elaboración de estas, influyendo en este



componente, para lo cual se tendría que hacer un estudio sobre la estructura de las proteínas y elucidar, el por qué de la disminución.

En el porcentaje de grasa se observa una disminución de 2.69 % en el maíz a 0.44%, 0.47% y 0.43% en nixtamal, masa y tortilla respectivamente, siendo en estos tres últimos muy similar el valor. Esta disminución se puede deber al proceso de nixtamalización, donde se pierda parte del contenido de grasa. Al adicionar óxido de calcio al maíz y cocerlo, se pierde el pericarpio de este cereal, aunado con la pérdida del germen, el cual contiene el mayor contenido de grasa, por lo tanto esta puede ser una posible explicación de la disminución de este componente.

El contenido de fibra y cenizas presentan un incremento, la fibra puede ser incrementada por los tratamientos térmicos las cuales hacen insolubles a los componentes de esta, sin embargo esta reacción no esta completamente clara; el porcentaje de cenizas se esperaba que incrementara ya que el calcio es adicionado en el proceso de nixtamalización, lo cual trae consigo un aporte nutricional adicional.

En el cuadro 7 también se presenta el análisis proximal en base seca del arroz crudo y cocido. El contenido de proteína en la muestra cocida es menor que en la muestra cruda, pero no existe diferencia significativa ($\alpha = 0.01$) al igual que en los valores de fibra, esta misma tendencia se observara en los valores de grasa, cenizas; sin embargo si hay diferencia, aunque en los valores de grasa se nota más esta disminución. Estos componentes se pudieron perder en el agua de cocción por lo que causan un efecto de aumento en el contenido de carbohidratos.

**Cuadro 7.** Tabla de la composición química de los cereales (base seca)^a

Muestras	(g / 100g de muestra)				
	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra Cruda	Carbohidratos ^c
Maíz	8.67 ± 0.27	2.69 ± 0.10	1.46 ± 0.09	1.38 ± 0.10	85.81
Nixtamal	9.33 ± 0.10	0.44 ± 0.07	2.11 ± 0.02	2.01 ± 0.25	86.11
Masa	9.23 ± 0.06	0.47 ± 0.04	2.00 ± 0.03	2.26 ± 0.09	86.05
Tortilla	8.62 ± 0.13	0.43 ± 0.07	2.10 ± 0.11	2.05 ± 0.11	86.82
Arroz crudo	8.62 ± 0.22	0.77 ± 0.10	0.81 ± 0.08	0.51 ± 0.08	89.30
Arroz cocido	7.85 ± 0.20	0.11 ± 0.02	0.60 ± 0.03	0.42 ± 0.04	91.03

^a Promedio ± D. E., C.V. ≤ 15; n=3.^b N x 6.25^c Calculados por diferencia.

En el cuadro 8 se muestran la composición química del frijol en base seca, donde, en el contenido de proteína se observa un aumento significativo ($\alpha = 0.01$) en la muestra cocida, los demás componentes se disminuyen por la pérdida de estos en el agua de cocción, lo cual explica el aumento en el valor de proteína, aquí cabe enfatizar que la disminución en los valores de grasa del frijol crudo al cocido se reducen casi a la mitad de su valor con respecto a la muestra cruda, mientras que la disminución de fibra y cenizas es poco significativo. El contenido de proteína será determinante para la interacción con el almidón y por lo tanto explicación de formación de almidón resistente; el contenido de carbohidratos en ambas muestras es similar.

Una tendencia muy similar se observa en el garbanzo (cuadro 8), donde, también el contenido de proteína es mayor en la muestra cocida, esto se debe a que en el agua de cocción se pierdan parte de los otros componentes (por lo tanto sería conveniente un análisis en esta): sin embargo, la disminución de grasa, cenizas y fibra no es de igual proporción; ya que en la primera el valor se ve reducido a la mitad con respecto a la muestra cruda, el valor de cenizas se reduce casi 10 veces su valor inicial (muestra cruda), mientras que en el valor de la fibra cruda la disminución es poco significativa ($\alpha = 0.01$).



Cuadro 8. Tabla de la composición química de las leguminosas (base seca)^a
(g / 100g de muestra)

Muestras	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra Cruda	Carbohidratos ^c
Frijol crudo	19.89 ± 0.17	0.92 ± 0.10	4.01 ± 0.11	6.77 ± 0.33	68.40
Frijol cocido	21.35 ± 0.26	0.39 ± 0.02	3.55 ± 0.18	6.37 ± 0.23	68.34
Garbanzo crudo	22.66 ± 0.26	4.71 ± 0.08	3.51 ± 0.06	4.06 ± 0.36	64.99
Garbanzo cocido	24.04 ± 0.22	2.60 ± 0.06	0.28 ± 0.02	3.53 ± 0.37	69.55

^a Promedio ± D. E. , C.V. ≤ 15; n=3.

^b N x 6.25

^c Calculados por diferencia

Al cocer la papa se pierden ciertos componentes en el agua de cocimiento como se observa en el cuadro 9, donde, los valores de proteína, cenizas y fibra se ven disminuidos significativamente, concentrándose el contenido de grasa y carbohidratos, por lo tanto aumentan estos valores.

Se observa del cuadro 9 que el valor de grasa en la muestra cruda es menor en cinco veces que el de la muestra cocida, también la fibra disminuye aunque no de la misma forma, estos dos componentes se pudieron perder en el agua de cocción produciendo un efecto de concentración en el contenido de proteína; aunque el valor de cenizas también aumenta de la muestra cruda a la cocida, este es poco significativo. El valor de los carbohidratos es similar en ambas muestras, por lo tanto la cocción no afectó el contenido de este.

Cuadro 9. Tabla de la composición química de los tubérculos (base seca)^a
(g / 100g de muestra)

Muestras	Proteína Cruda ^b	Grasa cruda	Cenizas	Fibra Cruda	Carbohidratos ^c
Papa cruda	9.99 ± 0.12	0.15 ± 0.02	5.85 ± 0.34	3.10 ± 0.16	80.96
Papa cocida	6.71 ± 0.15	0.27 ± 0.02	3.72 ± 0.22	2.55 ± 0.07	86.77
Camote crudo	1.99 ± 0.17	0.40 ± 0.01	2.84 ± 0.09	4.10 ± 0.38	90.67
Camote cocido	3.24 ± 0.05	0.07 ± 0.03	2.99 ± 0.10	3.70 ± 0.20	90.05

^a Promedio ± D. E. , C.V. ≤ 15; n=3.

^b N x 6.25

^c Calculados por diferencia

Composición de todas la muestras. Las muestras que presentan mayor porcentaje de proteína son el frijol y el garbanzo (crudo y cocido), esta característica será de importancia para la discusión en el aumento de la fibra dietética y almidón resistente; esto era de esperarse por que en la literatura se sabe que las leguminosas contienen un alto porcentaje de proteína.

Por otro lado en el porcentaje de grasa solamente hay dos muestras que están por encima del 1%, siendo estas maíz con 2.69 % y garbanzo con 4.71%, las demás muestras son menores a este porcentaje, el porcentaje de lípidos puede influir en la formación del almidón resistente como lo menciona Osorio et al, (2002). Fennema, 1988, indica que los cereales en el gránulo de almidón son los que contienen mayor porcentaje de lípidos.

La papa cruda muestra el valor más alto de cenizas con respecto a las demás muestras ya que en este tipo de tubérculos su contenido en fósforo es mayor (Fennemma, 1988), sin embargo el porcentaje de cenizas para todas las muestras oscila entre el intervalo de 1.46 hasta 5.8%, estos valores no son muy altos comparados con otros alimentos que contienen porcentajes mayores al 10%; sin embargo, aunque el contenido de cenizas es bajo, son buena fuente de algunos minerales, como en el caso del frijol, del cual podemos obtener hierro.

El valor de fibra cruda en el frijol (crudo y cocido) es mayor a todos los demás, por otro lado el valor de fibra cruda en el garbanzo, papa y camote son muy similares, siendo que el primero es una leguminosas y los dos últimos son tubérculos (esta similitud no se presentará al medir la fibra dietética)

El porcentaje de carbohidratos en cereales y tubérculos es muy similar (este factor de similitud será importante cuando se discuta sobre la igualdad nutricional de almidón resistente y fibra dietética en estos), siendo el menor porcentaje en leguminosas.



FIBRA DIETÉTICA TOTAL Y ALMIDÓN RESISTENTE

En cuadro 10 se observa el contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR) en base húmeda. El contenido de FDT y AR es mayor en las muestras crudas que el obtenido para las muestras cocidas, contrario a lo que se esperaba, sin embargo se puede observar en esta misma tabla que el contenido de humedad incrementa en las muestras cocidas y debido a esto los valores de FDT y AR disminuyen. No sucede lo mismo en el caso de la papa y el camote, en donde la humedad es ya alta en las muestras crudas y por lo tanto sus valores en muestras crudas y cocidas son similares; sin embargo se presenta diferencia significativa ($\alpha = 0.05$), excepto para el valor de FDT en el camote en donde el contenido de este no es estadísticamente diferente ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 10. Tabla del contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR), humedad en cereales, leguminosas y tubérculos crudos y cocidos (g / 100 g de muestra en base húmeda.)

Muestra	FDT ^a		AR ^b		Humedad	
	crudo	cocido	crudo	cocido	Crudo	cocido
<i>Cereales</i>						
Maíz	7.50 ± 0.22		0.46 ± 0.04		11.56 ± 0.06	
Nixtamal		4.45 ± 0.27		0.16 ± 0.01		54.07 ± 0.30
Masa		4.40 ± 0.28		0.24 ± 0.01		55.1 ± 0.09
Tortilla		5.64 ± 0.16		0.67 ± 0.01		46.43 ± 0.05
Arroz	1.64 ± 0.20	0.7 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.31 ± 0.00	11.77 ± 0.07	70.42 ± 0.04
<i>Leguminosas</i>						
Frijol	20.18 ± 0.77	12.08 ± 0.61	3.59 ± 0.20	1.97 ± 0.01	8.31 ± 0.10	63.6 ± 0.12
Garbanzo	15.20 ± 0.97	8.80 ± 0.38	0.55 ± 0.03	0.12 ± 0.01	7.89 ± 0.01	56.46 ± 0.04
<i>Tubérculos</i>						
Papa	1.25 ± 0.08	1.51 ± 0.12	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.00	85.22 ± 0.90	76.91 ± 1.02
Camote	2.05 ± 0.1*	2.2 ± 0.08*	0.05 ± 0.01	0.17 ± 0.01	74.37 ± 0.02	74.30 ± 0.05

^a Media ± D. E. de cuatro determinaciones, C.V. ≤ 10

^b Media ± D.E. de seis repeticiones de 2 determinaciones, C.V. ≤ 15

* no hay diferencia significativa entre muestras cocidas y crudas.



En los cuadros 11, 12 y 13 se muestran los valores de FDT, AR y FDT corregida en base seca, esta última es de gran importancia, ya que se puede observar que el aumento en los valores de FDT en algunos alimentos se deben al incremento en el contenido de AR, generando la cocción el aumento de este.

Cuando el maíz se somete al proceso de nixtamalización y posteriormente a la transformación del nixtamal a tortilla se observa que el contenido de fibra dietética total aumenta significativamente del maíz hasta la tortilla presentando valores del 8.4 a 10.5%; sin embargo al corregir el valor de FDT, se observa que este incremento no es precisamente al aumento de FDT, si no al aumento de almidón resistente; sin embargo, el valor de FDT corregida entre el maíz y el nixtamal, tiene una clara tendencia de aumento, la cual no puede ser atribuida al almidón resistente, si no al efecto que tiene el proceso de nixtamalización, en donde, el calcio puede interactuar con algún componente del maíz (tal y como lo observa el grupo de Sefa-Dedeh et al (2003) en el comportamiento de la proteína al incrementar con el aumento en el porcentaje de óxido de calcio) y convertirse resistente a la hidrólisis, por lo tanto tendría que hacerse un análisis de proteína resistente a hidrólisis y descartar que el aumento efectivamente fue de FDT.

Los gránulos de almidón del maíz se encuentran entre 2 – 10 μm , por lo tanto son gránulos pequeños, esto influye para que la temperatura de gelatinización sea mayor, además, la influencia del calcio también aumentará esta temperatura (Charley, 1997), el exudado de la amilosa es más lenta, debido a estos factores, por lo tanto, se favorece al ordenamiento de esta y posterior retrogradación, por esto se observa un aumento en el contenido de almidón resistente.



Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sánchez-Castillo et al (1999) quién reporta valores en el nixtamal (6% B. H.) similares a los obtenidos en este estudio observados en el cuadro 10, sin embargo ellos evaluaron sus muestras con el método de Englyst, et al. (1994); Li, et al (2002) también reporta valores de FDT pero en la tortilla similares a los obtenidos en base húmeda, siendo del 5.5%, al igual que Sánchez-Castillo et al (1999) evalúan el valor de FDT por otro método.

El contenido de FDT en el arroz aumenta en la muestra cocida, este incremento se puede deber también a la formación de almidón resistente, para lo cual nuevamente se realiza la corrección de la fibra como se puede observar en el cuadro 11, en donde nos indica que con el proceso de cocción se aumento el valor de AR y por ende el de FDT. Li, et al (2002) reporta un valor un poco menor de FDT (0.34%) que el obtenido (0.7%) en la muestra cocida en base húmeda .

El porcentaje de almidón resistente en el arroz cocido es significativamente mayor ($\alpha = 0.05$) que en el arroz crudo; el arroz utilizado fue extra largo, esta clasificación nos indica que tiene un 25% de amilosa (importante para la formación de AR III); también el gránulo de este cereal es pequeño por lo tanto gelatiniza a temperaturas más altas favoreciendo el ordenamiento de la amilosa (la cual fue exudada del gránulo de almidón) iniciando la etapa de retrogradación. Como era de esperarse habría formación de almidón resistente en el arroz al cocerlo, debido al contenido de amilosa, tal y como se muestra en el cuadro 11. En un estudio similar realizado por Eggum, et al (1993) obtiene valores mayores de almidón resistente que en los reportados aquí oscilando para los arroces crudos de 0.5 – 3.6% y para los cocidos de 2.0 –



3.4%. Mientras que Platel & Shurpalekar (1994) reporta un valor A.R. de 1.7% para la muestra cocida siendo esta similar al observado en el cuadro 11.

La tortilla y el arroz no muestran diferencias en cuanto al contenido de almidón resistente, y por ende proporcionan el mismo beneficio tanto para las personas con requerimientos de bajo índice glicémico así como para las personas que no tienen problemas de salud.

Cuadro 11. Tabla del contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR), fibra dietética total corregida (FDT_{corregida}), en cereales. (g / 100 g de muestra en base seca)

Muestra	FDT ^a		AR ^b		FDT ^c _{corregida}	
	crudo	cocido	crudo	cocido	crudo	cocido
Maíz	8.24 ± 0.24		0.52 ± 0.04		7.72	
Nixtamal		9.68 ± 0.60		0.35 ± 0.01		9.33
Masa		9.79 ± 0.60		0.53 ± 0.03		9.26
Tortilla		10.53 ± 0.30		1.26 ± 0.02		9.27
Arroz	1.86 ± 0.22	2.71 ± 0.11	0.26 ± 0.01	1.20 ± 0.01	1.60	1.51

^a Media ± D. E. de cuatro determinaciones, C. V. ≤ 10

^b Media ± D.E. de seis repeticiones de 2 determinaciones, C. V. ≤ 15

^c FDT_{corregida} = FDT - AR

* no hay diferencia significativa entre muestras cocidas y crudas.

En el caso de las leguminosas estas presentan el mayor porcentaje tanto de FDT, como de AR (cuadro 12) excepto para el valor de A. R. de la muestra cruda del garbanzo, el cual es muy similar al valor de A. R. obtenido en las muestras cocidas del maíz (cuadro 11).

En el frijol y garbanzo se observa un incremento del porcentaje en fibra dietética total en muestras cocidas (cuadro 12); la respuesta a este aumento puede ser por tres factores, la formación de almidón resistente, segundo formación de complejos taninos-proteína y tercero formación de productos de la reacción de Maillard. La determinación de nitrógeno en los residuos de fibra dietética insoluble podría proporcionar una idea de la formación de taninos-



proteína y los productos de Maillard, analizando los residuos de proteína insoluble antes y después de la cocción, sin embargo solamente se poseen los resultados de los valores de almidón resistente en donde el contenido de AR en la muestra cocida es significativamente mayor. En este caso la formación de almidón resistente aunque contribuye al aumento de FDT no es determinante para indicar que es el único factor de influencia, ya que al realizar la corrección de la FDT de cualquier forma aumenta el valor al cocerla. En el caso del frijol Hohlberg & Stanley (1987) estudian la interacción de la proteína con el almidón, la cual provoca la dureza del frijol después de cocido, por lo tanto esto también podría ser un factor determinante en la formación de almidón resistente.

Resultados similares tanto para FDT como para AR han sido reportados por otros autores como en el caso del garbanzo estudiado por Pérez-Hidalgo et al (1996), Vidal-Valverde (1991) y Li, W. (1995) donde concuerdan con los obtenidos en este estudio, el primero reporta valores de FDT de 16.8% siendo un poco menor al observado en el cuadro 12 para la muestra cruda (Pérez-Hidalgo et al, 1996 utiliza el mismo método de cuantificación), el contenido de FDT en el garbanzo cocido (20.19%) es un poco menor que el reportado por este autor (25%), el segundo de los autores mencionados aunque no mide FDT, sino fibra detergente neutra, también concuerda con la tendencia de aumento de este alimento al cocerlo, Li, et al, (1995) (utilizando el método de Li & Cardozo, 1993, para su cuantificación) obtiene valores de 16.5 % observándose igualdad con los resultados presentados en el cuadro 12, siendo estos también de 16.5%.



García, et al (1995) y Kutoš et al. (2003) reportan valores de FDT de 17.7 a 23% para el frijol crudo, en cuadro 12 se observa que se obtuvo un valor similar (22%); el contenido de FDT en la muestra cocida fue de 33.2% mucho mayor que el reportado por Kutoš et al. (2003) (22.6 %), en este caso este autor encontró que al cocer el frijol sin remojarlo, disminuye el valor de FDT, lo cual en este caso sucede lo contrario. Para los valores de almidón resistente este mismo autor reporta el porcentaje de 9.1 y 5.4% para la muestra cruda y cocida respectivamente, en este caso los valores de las muestras cocidas son iguales a los presentados en este estudio, difiriendo en los valores de las muestras crudas, siendo mayor el valor obtenido por este autor (9.1%), Tovar & Melito (1996) difieren del valor de AR en un estudio similar realizado con frijol negro crudo siendo este menor al presentado (1.9%), mientras que en la muestra cocida es similar (5.6%). Vargas-Torres, et al (2004) reporta valores un poco menores (1.6 – 3.1%) a los obtenidos para el frijol cocido, esto se puede deber a que este autor utiliza otras variedades del frijol siendo un factor determinante para causar diferencias en los valores reportados. Velasco et al (1997) al igual que Tovar & Melito (1996) utilizó frijol negro, reportando valores un poco mayores a los obtenidos.

Cuadro 12. Tabla del contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR), fibra dietética total corregida (FDT *corregida*), en leguminosas. (g / 100 g de muestra en base seca)

Muestra	FDT ^a		AR ^b		FDT ^c <i>corregida</i>	
	Crudo	cocido	Crudo	cocido	crudo	cocido
Frijol	22.13 ± 0.84	33.19 ± 1.70	3.91 ± 0.22	5.40 ± 0.01	18.22	27.79
Garbanzo	16.50 ± 1.05	20.19 ± 0.90	0.60 ± 0.04	2.64 ± 0.05	15.90	17.55

^a Media ± D. E. de cuatro determinaciones, C. V. ≤ 10

^b Media ± D.E. de seis repeticiones de 2 determinaciones, C. V. ≤ 15

^c FDT *corregida* = FDT - AR

* no hay diferencia significativa entre muestras cocidas y crudas.



Los granos de almidón de la papa son grandes, esta característica trae consigo una disminución en la temperatura de gelatinización, y debido a su tamaño los granos de almidón solamente se hinchan disminuyendo el exudado de amilosa, determinante para la retrogradación, debido a esto era de esperarse que estos no formaran almidón resistente, tal y como se observa en el cuadro 13.

Los componentes de la fibra, al ser cocido el vegetal, pueden solubilizarse e irse en el agua de cocción; sin embargo habría que hacer un estudio en esta para confirmar que efectivamente se encuentra allí parte de estos componentes o sino evaluar, si fueron degradados por el tratamiento térmico.

Los valores de FDT y AR en la papa disminuyen al ser cocida (cuadro 13) existiendo diferencia significativa entre los valores de papa cruda y cocida, estudios similares reportan esta tendencia en la disminución del valor en la papa al ser cocida, autores como Herranz, et al (1981) y Zia-ur-Rehman, et al (2002) explican que esta disminución se debe a la pérdida de alguno de los componentes como puede ser la lignina, celulosa, hemicelulosa o hidrólisis de estas, sin embargo Reistad & Hagen (2003) y Thed & Philips (2000) opinan que al cocer este tipo de vegetal aumenta el contenido de fibra dietética. Al igual que estos autores Kingman & Englyst (1994) en un estudio comparativo en papa pero analizando AR observan que también aumenta, por lo cual difiere de lo observado en este trabajo.

Mientras que los valores de AR y FDT para la papa disminuyen al cocerla, los del camote también se ven disminuidos en FDT para la muestra cocida sin embargo la diferencia es poco significativa ($\alpha = 0.05$), pero el valor de AR aumenta en la muestra cocida comparado al de la muestra cruda.



Los cereales y tubérculos aportan contenidos similares de FDT en crudo, por lo tanto nutricionalmente son similares tal como se puede observar en los cuadros 11 y 13, con excepción del arroz, pero al cocerlos muestran clara diferencia, siendo mayores los valores de FDT en los cereales.

Los tubérculos presentan menor contenido de AR con respecto a los cereales y leguminosas como se puede observar en los cuadros 11, 12 y 13, por lo cual estos no aportarían tantos beneficios a personas que requieren mantener un índice glicémico bajo.

Cuadro 13. Tabla del contenido de fibra dietética total (FDT), almidón resistente (AR), fibra dietética total corregida (FDT_{corregida}), en tubérculos. (g / 100 g de muestra en base seca)

Muestra	FDT ^a		AR ^b		FDT ^c _{corregida}	
	crudo	Cocido	Crudo	cocido	crudo	cocido
Papa	8.45 ± 0.53	6.54 ± 0.50	0.15 ± 0.02	0.05 ± 0.01	8.13	6.53
Camote	8.52 ± 0.30*	7.96 ± 0.39 *	0.20 ± 0.02	0.66 ± 0.01	8.32	7.30

^a Media ± D. E. de cuatro determinaciones, C. V. ≤ 10

^b Media ± D.E. de seis repeticiones de 2 determinaciones, C. V. ≤ 15

^c FDT_{corregida} = FDT - AR

* no hay diferencia significativa entre muestras cocidas y crudas.

IX CONCLUSIONES.

- El proceso de nixtamalización y posterior tratamiento térmico en la elaboración de las tortillas no contribuye a un cambio significativo en el contenido de fibra dietética total y almidón resistente, sin embargo este sí se ve afectado tal y como se consume ya que el porcentaje de humedad es alto en las tortillas y por lo tanto disminuye tanto el contenido de FDT como el de AR, sin embargo el consumo de este alimento es el más alto en la población mexicana, por lo tanto se compensa el bajo contenido en estos componentes por su consumo.
- Al igual que el maíz, en el arroz la proporción de humedad también es mucho mayor al cocer el alimento, lo cual disminuye el contenido de FDT y AR; sin embargo es un alimento que es altamente consumido; lo cual también compensa el contenido de estos componentes, además también cabría considerar el tipo de arroz que se consume, ya que de acuerdo a su clasificación hay unos que no formarían A.R., al igual, que hay otros, que su presentación es de arroz integral, por lo cual aumentaría el contenido en FDT.
- Las leguminosas y sobre todo el frijol contribuye a un muy buen aporte de FDT y AR, tal y como se consume, esto trae consigo que este tipo de alimentos pueden utilizarse como opción para una dieta terapéutica, especialmente para los diabéticos, aportando el beneficio de obtener glucosa más lentamente.
- Los tubérculos son los menos adecuados para los pacientes con problemas de presión, obesidad y diabetes ya que su contenido de FDT y AR es el más bajo de todos los alimentos aquí analizados.

X BIBLIOGRAFÍA

AACC (2003). En: Memorias del Curso Internacional “Almidón y Fibra Dietética: Química, Tecnología y Biodisponibilidad”. Bello, L. A. P (Orgo), pp 102, Yautepec.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Edition, Vol II, Section 45.4.07, Method 985.29 (1995).

Akerberg, A. K. E., Liljeberg, H. G. M., Granfeldt, Y. E., Drews, A. W. & Björck, I. M. E. (1998). **An vitro method, based on chewing, to predict resistant starch content in foods allows parallel determination of potentially available starch and dietary fiber.** *Journal of Nutrition*. **128**, 651 – 660.

Almanzan, A. M. & Zhou, X. (1995) **Total dietary fiber content of some green and root vegetables obtained at different ethanol concentrations.** *Food Chemistry*, **53**, 215 – 218.

Anderson, J. W., Deakins, D. A. and Bridges, S. A. “Soluble fiber” (1990). In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds.), pp 339 – 359. Plenum Press. New York and London, 1990.

Asp, N. G. & Björck, I. (1992) **Resistant Starch.** *Trends in Food Science & Technology*. **3**. 111 – 114.

Asp, N. G. (1996). **Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology.** *Food Chemistry*. **57 (1)**, 9 – 14..

Bello, L. A. P. (Orgo) (2003). Memorias del Curso Internacional “Almidón y Fibra Dietética: Química, Tecnología y Biodisponibilidad”. (pp 1-5, 39 – 51, 90 - 130), Yautepec.



- Biliaderis, C. G. (1992) **Structure and phase transitions of starch in food systems.** *Food Technology*, **46 (6)**, 98 – 109.
- Brand, J.C., Snow, B.J. Nobhan, G.p., & Truswell, A. S. (1990). **Plasma glucose and insulin responses to traditional Pima Indian meals.** *American Journal of Clinical Nutrition*, **51**, 216-221.
- Burkitt, D.P.J., Walker, A.R.P., & Painter, N.K. (1974). **Dietary fiber and disease.** *Journal of the American Medical Association*, **229**, 1068-1077.
- Cairns P., Morris V. J., Botham, R. L. (1996) **Psychochemical studies on resistant starch in vitro and in vivo.** *Journal of Cereal Science*. **23**, Issue (3), 265 – 275.
- Charley H. (1997). **Tecnología de Alimentos. Procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos.** Ed. Limusa, Noriega Editores, pp 169 –183, México, D.F.
- Chávez, V. A., Ledesma, S. J. A., (1997) **Tabla de recomendaciones y valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en Latinoamérica.**
- Chávez, A., Avila, A., Bermejo, S. (1992) The food and nutrition of México: Areport of the 1960 – 1990 tendencies on food consumption, nutritional status and applied programs. Monography to the IEC / ICN of the United Nations, Publ. 157, Geneva. In: **Enciclopedia de la Fibra.** Garcia Obregón, O. P. (Ed). pp 10 – 11, , México, D. F.
- Cummings, J. H., and Englyst, H. N. (1987). **Fermentation in the human large intestine and the available substrates.** *American Journal Clinic Nutrition*. **45**, 1243 – 1255.
- Eerlingen, r. C., Van Den Broeck, J., Delcour, J.A., Slade, L., & Levine. (1994). **Enzyme-Resistant Starch. VI. Influence of sugar on resistant starch formation.** *Cereal Chemistry*. **71(5)**, 472 – 476.

- Edwards, C. A. "Physiological effects of fiber" (1990). In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds). pp 167 – 176. Plenum Press, New York and London.
- Eggum, B.O., Juliano, B.O., Perez, C.M., & Acedo, E.F. (1993). **The resistant starch, undigestible energy and undigestible protein contents of raw and cooked milled rice.** *Journal of Cereal Science*, 18, 159-170.
- Eliasson, A. C., Carlson, T. L., Larson, K. & Mieziš, Y. 1981. **Some effects of starch lipids on the thermal and rheological properties of wheat starch.** *Starch*. 33, 130 – 135.
- Englyst, H. N. and Cummings, J. H. "Measurement of non-starch polysaccharides (dietary fiber) (1990). In: **New development in dietary fiber physiological, physicochemical, and analytical aspects.** Furda I. & Brine, J. C. (Eds). pp 205 – 222. Ed. Plenum Press, New York,.
- Englyst, H.N., & Cummings, J.H. (1987). **Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 45, 423-231.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., & Cummings, J.H. (1992). **Classification and measurement of nutritionally important starch fractions.** *European Journal of Clinical Nutrition*, 46(2), S33-S50.
- Englyst, H. N., Quigley, M. E., Hudson, G. J., and Cummings, J. H. (1994) **Determination of dietary fibre as non-starch polysaccharides with gas-liquid chromatography.** *Analyst*. 199, 1497-1509.
- Escarpa, A., Gonzáles, M. C., Morales, M. D. and Saura-Calixto, F. (1997) **An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation.** *Food Chemistry*, 60(4), 527-535.



- Evans, I. D. & Haisman, D. R. 1982. **The effect of solutes on the gelatinization temperature range of potato starch.** *Starch*, **34**, 224 – 231.
- Fleming, S. E. & Yeo, S. (1990) "Production and absorption of short-chain fatty acid". In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds). pp 303 – 315. Plenum Press, New York and London.
- Fennema, O. R. 1988 **Química de los alimentos**, Ed. Acribia S. A. Zaragoza España, 2^{da} Edición, pp 228 –263.
- García, O. E., Infante, R. B. & Rivera, C. J. (1997) **Determination of total, soluble and insoluble dietary fibre in two new varieties of *Phaseolus vulgaris* L. using chemical and enzymatic gravimetric methods.** *Food Chemistry*. **59(1)**, 171 –174.
- Goñi, I., García – diz, L., Mañas, E. & Saura – Calixto, F. (1996). **Analysis of resistant starch: a method for foods and food products.** *Food Chemistry*. **56**, 445 – 449.
- Goñi, I., Bravo, J. A., & Saura Calixto F. (1997) **Resistant starch in potatoes deep-fried in olive oil,** *Food Chemistry*, **59 (2)**, 269 – 272.
- Gordon, D. T. (1990). "Total dietary fiber and mineral absorption" . In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)** Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds.), pp 105 –122. Plenum Press, New York and London.
- Herranz, J., Vidal – Valverde, C. & Rojas – Hidalgo, E. (1981) **Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked spanish vegetables.** *Journal of Food Science*. **46**, 1927 – 1932.
- Hohlberg, A. I. & Stanley, D. W. (1987) **Hard-to-cook defect in black beans. Protein and Starch.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **35**, 571 – 576.

Imberty, A., Buleon, A., Tran, V. & Perez, S. (1991) **Recent advances in knowledge of starch structure.** *Starch*. **43**, 375 – 384.

Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán”. Encuesta Nacional de Alimentación en el Medio Rural. ENAL, 1989. En **Enciclopedia de la Fibra**. .García Obregón, O. P. & Kellogg de México S. A. de C. V. (pp 10 - 11) *Kellogg®*, 2002.

Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán”. Encuesta Urbana de Alimentación y Nutrición en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México. ENURBAL, 1995. En: **Enciclopedia de la Fibra**. García Obregón, O. P. & Kellogg de México S. A. de C. V. (pp 10 - 11) *Kellogg®*, 2002.

Keys, A., Grande, F., & Anderson, J. T. (1961). **Fiber and pectin in the diet and serum cholesterol concentration in man.** *Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine*. **106**, 55-5558.

Kigman, S. M. & Englyst, H. N. (1994) **The influence of food preparation methods on the in-vitro digestibility of starch in potatoes,** *Food Chemistry*.**49(2)**, 181 – 186.

Krithcevsy, D. (1982). **Dietary fiber and disease.** *Bulletin of New York Academy*, 3, 230-235.

Kutoš, T., Golob, T., Kač, M., Plestenjak, A. (2003) **Dietary fibre content of dry and processed beans,** *Food Chemistry*. **80**, 231 – 235.

Lee, S. C. and Hicks, V. A. (1990) “Modification of the AOAC total dietary fiber method”. In: **New development in dietary fiber physiological, physicochemical, and analytical aspects.**

Furda I. And Brine, J. C.. (Eds.), pp210 – 232. Ed. Plenum Press, New York.

- Li, B. W. & Cardozo, M. S. (1992) **Non – enzymatic – gravimetric determination of total dietary fiber in fruits and vegetables.** *Journal. Association Official Analyst Chemistry.* **75 (2)**, 372 – 374.
- Li, B. W. (1995) **Comparison of three methods and two cooking times in the determination of total dietary fiber content of dried legumes.** *Journal of Food Composition and Analysis*, **8**, 27 – 31.
- Li, B. W., Andrews, K. W., & Phersson, P. R. (2002) **Individual sugar, soluble, and insoluble dietary fiber contents of 70 high consumption foods,** *Journal of Food Composition and Analysis* **15**, 715 – 723.
- Mañas, E. & Saura – Calixto, F. (1993). **Ethanollic precipitation: a source of error in dietary fiber determination.** *Food Chemistry.* **47**, 351 – 355.
- Mañas, E., Bravo, L. & Saura – Calixto, F. (1994). **Sources of error in dietary fiber analysis.** *Food Chemistry.* **50**, 331 – 342.
- Marlett, J. A. & Longacre, M. J. **Comparison of in vitro and in vivo measures of resistant starch in selected grain products.** *Cereal Chemistry-* **73 (1)**, 63 – 68.
- Mongomery. (1996) “Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería”, pp 625 – 652, Ed. Mc Graw Hill, México, D. F.
- Muir, J. G. & O’Dea, k. (1992). **Measurement of resistant starch; factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro.** *American. Journal of Clinic Nutrition.* **56**, 123 – 127.

- Noah, L., Guillon, F., Bouchet, B. Buleon, A. Molis, C., Gratas, M., & Champ, M. (1998). **Digestion of carbohydrate from white beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in healthy humans.** *Journal of Nutrition*, **128**, 977 – 985.
- Olson, A., Gray, G. M. & Chiu, M. (1987). **Chemistry and analysis of soluble dietary fiber.** *Food Technology*. **41**, 71 – 80.
- Oosten, B. J. 1982. **Tentative hypothesis to explain how electrolytes affect the gelatinization temperature of starches in water.** *Starch*. **34**, 2333 – 239.
- Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L. A., Agamma-Acevedo, E., Vargas-Torres, A., Tovar, J. and Parede-López, O. (2002) **In vitro digestibility and resistant starch content of some industrialized commercial beans (*Phaseolus vulgaris* L.),** *Food Chemistry*. **78**, 333 – 337.
- Osorio-Díaz, P., Bello-Pérez, L. A., Sáyago, S. A., Benitez, R. M. P., Tovar, J., Paredes, O. L. (2003) **Effect of processing and storage time on in vitro digestibility and resistant starch content of two bean (*Phaseolus vulgaris* L.),** *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83**, 1283 – 1288.
- Perez-Hidalgo, M.A., Guerrero-Hernández, E., García-Villanova, 1996. **Dietary Fiber in Three Raw Legumes and Processing Effect on Chick Peas by an Enzymatic-Gravimetric Method.** *Journal of Food Composition an analysis*, **10**, 66-77.
- Periago, M. J., Ros, G. & Casas, J. L. (1997). **Non-Starch Polysaccharides and in Vitro Starch Digestibility of Raw and Cooked Chick Peas.** *Journal of Food Science*, **62**, 1
- Platel, K., & Shurpalekar, K. S. (1994) **Resistant starch content of Indian foods,** *Plant Foods for Human Nutrition*, **45**, 91 – 95.



- Prosky, L., Asp, N. G., Schwizer, T. F., De Vries, J. W. & Furda, I. (1988). **Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: inter-laboratory study.** *Journal Association Official Analyst Chemistry*, **71**, 1017 – 1023.
- Roehring, K.L. (1990). **The physiological effects of dietary fiber. A review.** *Food Technology*, **44**, 1-13.
- Reistad, R. & Hagen, B. F. (1986) **Dietary fiber in raw and coked potatoes.** *Food Chemistry*, **19(3)**, 189 – 196.
- Rombeau, J. L., Kripke, S. A. & Settle, R. G. (1990) “Production, absorption, metabolism, and intestinal effect. In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds.) pp 319 – 337. Plenum Press, New York and London.
- Rowland and Mallett A. K. (1990) “The influence of dietary fiber on microbial enzyme activity in the gut”. In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds.) pp 195 – 204. Plenum Press, New York and London.
- Ruiz-Roso, B., Pérez-Olleros, L. & García-Cuevas, M. (2001) “Influencia de la fibra dietaria (FD) en la biodisponibilidad de los nutrientes”. En: **Fibra Dietética En Iberoamérica: Tecnología y Salud**. Lajolo, F.M., Suara-Calixto, F., Penna, E. W. & Menezes, E. W. (Eds.) pp 350 – 361. Ed. Varela, Sau Paulo.
- Sánchez, C. C., Englyst, H. N., Hudson, G.J., Lara, J. J., Solano, M., Munguía, J. L. & Philip, W. (1999) **The non-starch polysaccharide content of mexican foods,** *Journal of Food Composition and Analysis*, **12**, 293 – 314.

- Saura – Calixto, F., Goñi, I., Mañas, E. (1993) **Resistant starch in foods. Modified method for dietary fiber residues.** *Journal Food Science* **58**, 642 – 643.
- Schneeman, B. O. (1986). **Physical and chemical properties, methods of analysis and physiological effects.** *Food Technology*. Feb. 104-110.
- Scheeman, B.O. (1987). **Soluble and insoluble fibers. Different physiological response.** *Food Technology*, 41, 81-86.
- Sefa-Dedeh, S., Cornelius, B., Sakyi-Dawson, E., & Ohene, A. E. (2004) **Effect of nixtamalization on the chemical and functional properties of maize.** *Food Chemistry*. **86**, 317 –324.
- Story, J. A. and Furumoto, E. J. (1990). “Dietary fiber and bile acid metabolism”. In: **Dietary Fiber (chemistry, physiology, and health effects)**. Kritchevsky, D., Bonfield, C. & Anderson, J. W. (Eds.) pp 365 – 372..Plenum Press, New York and London.
- Sukhwant, M. K., Harvinder, K. & Tejinder, G. (1992). **Effect of cooking on fiber content of vegetables.** *Journal of Food Science an Technology*, **29**, 185 –186.
- Thed, S. T. & Phillips, R. D. (1995). **Changes of dietary fiber and starch composition of processed potato products during domestic cooking.** *Food Chemistry*. **52(3)**, 301 – 304.
- Torres V. M. R. (2002). **Flora Intestinal, Probióticos y Salud**, (pp 1 – 20). Ed. Universidad de Guadalajara, México.
- Tovar, J., Granfeldt, Y. & Björck, I. M. (1992). **Effect of processing on blood glucose and insulin responses to starch in legumes.** *Journal Agricultural Food. Chemistry*. **40**, 1846 – 1851.



- Tovar, J., Bjorck, I .M, & Asp, N.G. (1992a). **Incomplete digestion of legume starches in rats: a study of precooked flours containing retrograded and physically inaccessible starch fractions.** *Journal of Nutrition*, 122, 1500-1507.
- Tovar, J. & Melito, C. (1996) **Steam-cooking and dry heating produce resistant starch in legumes.** *Journal. Agricultural Food Chemistry*. 44, 2642 – 2645.
- Tovar, J. (2001) “Métodos para la determinación del contenido de almidón resistente en los alimentos” En: **Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud (obtenención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos).** Lajolo, F. M., Saura-Calixto, F., Witting de Penna, E. & Wenzel de Menezes, E. (Eds), pp 148 – 149. Varela Editora e livraria LTDA. Sau Paulo.
- Trowell, H. C. (1972). **Eschaemic heart disease and fiber.** *American Journal Clinic Nutrition*. 25, 926.
- Trowel, H. Southgate, D. A. T., Wolever, T. M. S., Leeds, A. R. I., Gussull, M. A., & Jenjins, D. A. (1976). **Dietary fiber redefined.** *Lancet*. 1, 967.
- Van Soets, P. J. & Wine , R. H. (1967) **Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell-wall constituyentes.** *Journal Association Official. Analyst Chemistry*. 50:50.
- Vargas, A. T., Osorio, P. D., Islas, J. H., Tovar, J., Paredes, O. L., Bello, L. A., (2004) **Starch digestibility of five coked black bean (*Phaseoulus vulgaris* L.) varieties.** *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 605 – 612.



- Velasco, Z. I., Rascón, A. & Tovar J. (1997) **Enzymic availability of starch in caged black beans (*Phaseolus vulgaris* L) and Cowpeas (*Vigna sp*).** *Journal Agricultural Food Chemistry* **45**, 1548 – 1551.
- Vidal – Valverde, C. & Frias, J., (1991) **Legume processing effects on dietary fiber components.** *Journal Food Science.* **56(5)**, 1350 –1352.
- Zia-ur-Rehman, Islam, M., Shah, W.H. (2002) **Effect of microwave and conventional cooking on insoluble dietary fibre components of vegetables.** *Food Chemistry*, **80**, 237-240.
- Zobel, H. F. (1988a) **Starch crystal transformation and their industrial importance.** *Starch*, **40**, 1 – 7.