

DETERMINACIÓN DE ALGUNOS AMINOÁCIDOS ESENCIALES EN ALGUNOS ALIMENTOS MEXICANOS CRUDOS Y COCINADOS*

Por los Dres. GUILLERMO H. MASSIEU, JESÚS GUZMÁN, RENÉ O.
CRAVIOTO y JOSÉ CALVO

*Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Departamento de
Nutriología, México, D.F.*

Mientras en otros países la carne, los huevos y la leche constituyen la fuente principal de proteínas en la dieta, en México no se consumen generalmente debido a su elevado costo o a las tradiciones firmemente arraigadas en el pueblo. La dieta mexicana¹ usual entre las clases más pobres consiste principalmente de maíz, habas y pulque suplementados con algunos vegetales, entre los cuales sobresalen, en la ciudad de México, el chile y el arroz.

El objeto de este estudio es ampliar nuestros conocimientos sobre el valor nutritivo de esos alimentos. La información relativa a su contenido calórico, vitamínico, y mineral, se hallará en los artículos de Cravioto y otros ('45b) y Cravioto y Miranda ('47), pero poco se conoce respecto a las cantidades que contienen de los llamados aminoácidos esenciales. Entre los primeros trabajos de esta clase relativos a los alimentos mexicanos, figura el de Giral y Cravioto ('41) sobre el contenido de trionina del maíz, pero no se dispone de información sobre los productos alimenticios preparados para el consumo. Por esta razón en este estudio se considera también la composición de las tortillas, y las habas y el arroz cocido. Creen los AA. que el principio básico para juzgar si una fuente de proteínas es o no adecuada, es el conocimiento de la calidad de dichas proteínas, es decir, si se hallan presentes las cantidades necesarias de aminoácidos esenciales toda vez que según algunos AA. (Elvehjem, '46; Krehl et al., '46) una dieta rica en proteínas de baja calidad puede causar más daño que una dieta con menos proteínas pero con un contenido balanceado de aminoácidos.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Muestras

Se tomó una muestra de maíz blanco (*Zea mays* L.) del cual se hacen las tortillas, siguiendo el método comúnmente utilizado en México según Cravioto y otros ('45a), o sea el tratamiento con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y calor. Se eliminó el almidón por digestión salival de acuerdo con el

* Traducido por la Sección Editorial de la Oficina Sanitaria Panamericana del *Jour. Nutrition*, Vol. 38, No. 3, julio 1949, pp. 293-304.

¹ En el altiplano central de México.—RED.

método de Doty ('41). Para las habas se utilizó una de las variedades más comunes en México, habas palacio (*Phaseolus Vulgaris* L.), una parte de las cuales se cocinó en agua hirviendo durante 3 a 4 horas a presión atmosférica para obtener lo que se llama en México "frijoles de olla." Como con el maíz, se eliminó el almidón, tanto de las habas crudas como de las cocidas, empleando una modificación del método de Doty. El arroz utilizado era blanco, sin pulir, tal como se consume en México, una parte fué cocida usando la técnica para la preparación de arroz blanco, como sigue: (a) se lava el arroz con agua caliente que se desecha y después con agua fría, desechándola también; (b) se seca el arroz y se calienta con aceite o manteca durante 5 a 10 minutos, removiendo el exceso de aceite; (c) se cubre el arroz con agua y se cocina durante media hora, agregando sal al gusto y agua a medida que sea necesario. Para el análisis, las muestras de arroz crudo y cocido fueron tratadas con éter, en el extractor Soxhlet durante 16 horas a fin de eliminar la grasa. Todos los granos se molieron en un mortero y se secaron *in vacuo* sobre P_2O_5 . Se tomó una muestra de pulque "de tinaca!" (pulque de fábrica) y se comenzó el análisis sin tratamiento previo especial.

Análisis de nitrógeno

Para el maíz, las tortillas, las habas crudas y las cocidas se empleó el método micro-Kjeldahl en muestras duplicadas, de 10 a 20 mg, desecadas sobre P_2O_5 . Para el arroz crudo y el cocido se utilizó el método de Kjeldahl sobre muestras de 0.5 gm desecadas como en el caso anterior. El pulque fué analizado por el método Kjeldahl utilizando muestras de 25 ml.

Preparación de muestras para análisis

Los hidrolisatos fueron hechos en muestras duplicadas de 100 mg de maíz, tortillas y habas crudas y cocidas, y de 1.0 gm de arroz crudo y cocido, cada una con 10 ml de HCl al 10%, sometidos al autoclave a 15 lbs durante 10 horas, para la determinación de todos los aminoácidos salvo triptófano. Para esta última determinación se llevó a cabo la hidrólisis a 15 lbs durante 10 horas con 5 ml de 5 N NaOH en muestras de 50 mg de maíz, tortillas y habas crudas y cocidas y de 0.5 gm de arroz crudo y cocido, las dos últimas con 10 ml de 5 N NaOH. Para el análisis del pulque, se hidrolizaron 500 ml agregando HCl para dar una concentración final de 10%. Para alcalinizar el hidrolisato se agregaron 20 gm de NaOH a 100 ml de pulque, dando una concentración de aproximadamente 20%. Ambas muestras fueron hidrolizadas a 15 lbs durante 10 horas. Las muestras fueron todas neutralizadas y el Ph ajustado a 6.8 después de la eliminación de humina. Se diluyeron en la forma deseada.

Análisis de aminoácidos

El método microbiológico de Stokes y otros ('45) fué empleado para la determinación de aminoácidos, utilizando *Streptococcus faecalis* y *Lactobacillus delbrückii* LD5. En algunos casos (habas, habas cocidas, arroz, arroz cocido, y pulque) se utilizaron 2.5 ml del medio basal en lugar de 5 ml, con la misma dilución del *inoculum*. Las soluciones estándar fueron hechas a la misma concentración que en el método original; el volumen final en los tubos fué de 5 ml. El ácido producido durante la incubación fué titulado con 0.025 N NaOH excepto en las determinaciones de fenilalanina, en cuyo caso se emplearon 0.05 N NaOH. Las pruebas de recuperación se efectuaron agregando cantidades conocidas de aminoácidos a muestras de maíz y tortillas antes de la hidrólisis, empleando 2.5 ml de medio basal por tubo.

RESULTADOS

El contenido aminoácido de los alimentos analizados, a excepción del pulque, fué notificado en porcentaje de proteína total en lo que se refiere a materia seca. Según recomienda el Departamento de Agricultura de Estados Unidos ('31), fué utilizado el factor 6.25 para calcular el contenido de proteína del maíz, la tortilla y las habas (cocidas y sin cocinar), y el factor 5.95 para el arroz crudo y cocido. Los resultados aparecen en la Tabla 1 con excepción de aquellos relativos al pulque, que aparecen

TABLA 1.—*Contenido aminoácido de las comidas analizadas*

Substancia	Nitrógeno por ciento de peso seco	Por ciento, calculado al 16% de Nitrógeno a base seca								
		Lisina	Triptófano	Histidina	Fenilalanina	Leucina	Treonina	Metionina	Valina	Arginina
Maíz, desgrasado ¹	6.91	2.5	0.6	2.3	4.4	19.6	4.7	1.9	5.4	4.4
Tortilla, desgrasada ¹	6.06	2.2	0.4	1.7	4.3	18.9	3.5	1.7	5.4	3.7
Habas, desgrasadas ¹	6.69	6.0	1.0	2.5	5.4	13.2	5.0	0.7	5.3	4.7
Habas (cocidas), desgrasadas..	6.83	5.7	1.0	2.4	5.3	11.8	4.8	0.7	5.1	4.7
Por ciento, calculado al 16.8% de Nitrógeno, a base seca										
Arroz, desgrasado.....	1.32	3.3	1.5	2.1	4.6	9.7	4.5	1.9	6.7	6.3
Arroz (cocido), desgrasado....	1.17	3.3	1.7	1.8	4.8	9.5	4.1	2.0	6.8	5.8
Por ciento, calculado al 16% de Nitrógeno a base seca										
Proteínas de huevo íntegro ²		7.2	1.5	2.1	6.3	9.2	4.9	4.1	7.3	6.4

¹ El almidón fué removido por medio de digestión salival.

² Informe de Mitchell y Block ('46).

en la Tabla 2, donde los aminoácidos se expresan como miligramos por 100 ml. Señalaremos que en el arroz la cocción causó considerable pérdida de nitrógeno, probablemente debido a que las aguas en que se lavó removieron algunos compuestos de nitrógeno. En términos de sustancias secas, el arroz sin cocer y el mismo arroz cocido contenían 1.32% y 1.17% de nitrógeno respectivamente.

TABLA 2.—Contenido aminoácido del pulque

Nitrógeno Gm por 100 ml	Contenido aminoácido, en mg por 100 ml								
	Lisina	Triptó- fano	Histidina	Fenila- lanina	Leucina	Trionina	Metio- nina	Valina	Arginina
0.14	16.2	2.7	4.7	11.2	10.5	6.4	0.7	6.6	10.9

La Tabla 3 presenta una comparación de la información obtenida para maíz y arroz íntegros, a base de 16% de nitrógeno. No hemos encontrado informes sobre composición de aminoácidos de las habas estudiadas (*Phaseolus vulgaris*). Solamente existen referencias a las globulinas *a* y *b* en las habas negras de los mayas en las cuales Jones y otros ('38) hallaron algunos aminoácidos.

TABLA 3.—Comparación de algunos valores informados en el presente trabajo (maíz y arroz íntegros) con otros observados por diferentes A.A. Por ciento, calculado al 16% de nitrógeno a base seca

Aminoácido	Maíz íntegro				Arroz			
	Valores en el presente trabajo	Valores de literatura			Valores en el presente trabajo	Valores de literatura		
		Block y Bolling ¹	Horn y otros ²	Schweigert ³		Block y Bolling ¹	Horn y otros ²	Block ⁴
Lisina.....	2.5	2.5	2.3	2.3, 2.3	3.1	3.2	2.8	3.2
Triptófano.....	0.6	0.6			1.4	1.3		1.3
Histidina.....	2.3	2.4	1.9	2.4, 2.2	2.0	1.5	2.0	1.5
Fenilalanina.....	4.4	4.5	5.2	4.3	4.4	6.2	4.8	6.7
Leucina.....	19.6	21.5 ± 2.4		9.6	9.2	7.7		9.0
Treonina.....	4.7	3.6	3.9	3.1, 3.9	4.3	3.9	3.5	4.1
Metionina.....	1.9		1.4		1.8	3.4	1.4	3.4
Valina.....	5.4	4.6 ± 0.7	5.3	5.2	6.3	6.4	6.3	6.3
Arginina.....	4.4	4.0	4.7	4.7	6.0	7.2	8.2	7.2

¹ Block y Bolling ('45).

² Horn y otros ('46, '47a, '47b, '47c, '48a, '48b, '48c).

³ Schweigert ('48).

⁴ Block ('45).

La recuperación de cantidades conocidas de aminoácidos agregados a las sustancias con anterioridad a la hidrólisis se hallan cuantitativamente dentro de ±5%. Los resultados aparecen en la Tabla 4.

TABLA 4.—*Recuperación de aminoácidos agregados a las proteínas antes de la hidrólisis. (Miligramos por gramo de material desecado)*

Aminoácido	Muestra	Contenido	Agregado	Total	Encontrado	Por ciento recuperado
Trionina	Tortilla	12.7	15.0	27.7	26.5	96
Valina	Tortilla	19.9	20.0	39.9	40.7	102
Fenilalanina	Tortilla	16.0	15.0	31.0	30.0	97
Leucina	Tortilla	71.9	75.0	146.9	145.5	99
Metionina	Tortilla	6.6	5.0	11.6	11.8	102
Arginina	Tortilla	14.0	15.0	29.0	30.2	104
	Maíz	19.7	15.0	34.7	36.8	105
Histidina	Tortilla	6.5	5.0	11.5	11.3	98
	Maíz	10.0	5.0	15.0	14.3	95
Lisina	Maíz	10.4	10.0	20.4	19.4	95

En términos generales, nuestra información sobre el contenido aminoácido del maíz y el arroz íntegros convienen con los comunicados por algunos investigadores. Nuestra información sobre trionina y metionina en maíz íntegro y sobre arginina, metionina y fenilalanina, en arroz, no están de acuerdo con la de algunos AA. Creemos que las discrepancias son debidas en parte a los diferentes métodos empleados para el análisis de los aminoácidos. Por otra parte pueden deberse a las diferencias que Doty y otros ('46) observaron en el contenido aminoácido del maíz por la influencia de los factores genéticos y también por el hecho observado por Kik ('41) respecto a que el empleo de fertilizantes afecta el contenido aminoácido del arroz.

DISCUSIÓN

Si aceptamos el criterio de Mitchell y Block ('46), es importante evaluar la calidad de una proteína con respecto a su contenido aminoácido comparándolo con el huevo íntegro. Experimentos basados en el crecimiento de la rata, llevados a cabo por esos AA., demuestran que la proteína del huevo íntegro está perfectamente balanceada en aminoácidos. Por esta razón al final de la Tabla 1, se muestran las cifras comunicadas por Mitchell y Block para el huevo íntegro. De este modo podemos calcular el valor biológico de los alimentos analizados a pesar de la falta de datos sobre isoleucina, tirosina, y cistina, las dos últimas consideradas semiesenciales por Block y Bolling ('44). Casi el mismo criterio ha sido sostenido por Giral ('43), quien comparó la cantidad de aminoácidos que suministran varios alimentos con la que suministra la ingestión de dos huevos diarios que considera contienen suficiente cantidad de aminoácidos esenciales.

Según el punto de vista de Mitchell y Block, puede manifestarse que el maíz es más deficiente en lisina que en triptófano y que las habas son deficientes en metionina. El arroz es deficiente también en lisina pero no

en triptófano. Pueden observarse también deficiencias de metionina en el maíz y en el arroz. Los otros aminoácidos se desvían menos de las cantidades en que aparecen en las proteínas de huevo íntegro. Debe, sin embargo, tenerse presente que la comparación es sólo superficial, debido a las diferencias en los métodos de análisis de aminoácidos empleados por Mitchell y Block para el huevo íntegro y la de los AA. para los alimentos que analizamos.

Puede inferirse de los resultados obtenidos que las habas pueden compensar en cierto grado la falta de lisina en el maíz y en el arroz, y por otra parte, que el arroz puede compensar la deficiencia de triptófano en los otros dos. Pero en una dieta de habas, maíz y arroz combinadas en las proporciones en que nuestro pueblo consume esos alimentos, las deficiencias de lisina y triptófano no estarían compensadas. De la información obtenida de varias encuestas por Anderson y otros ('46) y Calvo y otros ('46) se sabe que en la dieta mexicana predominan las tortillas sobre las habas y el arroz. De acuerdo con Miranda ('47), la ingestión diaria del mexicano promedio es 216.2 gm de maíz, 22.5 de habas, y 11.6 gm de arroz. Esta dieta no se halla equilibrada con respecto a lisina y triptófano.

Los resultados obtenidos con el pulque (véase Tabla 2) deben ser considerados tentativos. Toda vez que el nitrógeno en esta bebida puede variar dentro de amplios límites, se necesita mayor número de muestras para obtener cifras definitivas. Podemos sin embargo, decir que los resultados demuestran que gran cantidad de aminoácidos, especialmente lisina, deben ser obtenidos de las grandes cantidades de pulque que ingieren ciertos sectores de la población.

Los cambios producidos por el procedimiento de calor en diferentes alimentos con respecto a las transformaciones en la composición de aminoácidos se han comprobado tanto por los experimentos en ratas como por análisis químicos y microbiológicos. Existe el trabajo de Olcott y Fontaine ('41), quienes encontraron que sometiendo al autoclave la harina de la semilla de algodón su valor biológico disminuye y que agregando lisina el valor vuelve a lo normal. Block y otros ('46) encontraron del mismo modo que la disminución en el valor biológico de una mezcla de varios alimentos, por medio del calor, fué debida a las transformaciones que ocurren en el componente de la lisina. Greaves y otros ('38) observaron que la caseína, calentada a 140°C durante 30 minutos pierde lisina e histidina sin dañar la cistina, la tirosina y el triptófano. Block y otros ('34) encontraron mediante análisis químico que el contenido de lisina no cambia materialmente en la caseína calentada a 150°C. Mitchell y Block ('46) notaron ligeros cambios en el contenido aminoácido de una mezcla de maíz-avena-centeno sometida al procedimiento de "explosión" para obtener avena enrollada. Esos AA. comunican cambios principalmente en la lisina (9.5%), valina (11.2%),

e isoleucina (12.6%). Sin embargo, consideran que no existe cambio fundamental en la composición de la mezcla. Patton y otros ('48) analizaron la caseína por métodos microbiológicos antes y después de calentarla con glucosa por reflujo durante 24 horas y encontraron pérdidas de lisina (26%), arginina (30%), y triptófano (39%).

Los AA. encontraron (véase Tabla 1) que los cambios producidos al cocinar las habas en las condiciones mencionadas ascendieron a sólo 9% en la leucina y 8% en la lisina. El arroz cocido sufre el mayor cambio en su contenido de triptófano (13.3%). Consideramos que esos cambios no alteran considerablemente la composición de los alimentos analizados desde el punto de vista de la nutrición, a pesar que excede levemente el radio de error de pruebas para aminoácido ($\pm 5\%$).

Del mismo modo vemos las variaciones del maíz al pasar del estado crudo al de tortilla. Esos cambios están caracterizados principalmente por pérdidas de triptófano (30%), trionina (26%), histidina (25%) y arginina (16%), y sobrepasan ampliamente el radio de error del método para pruebas de aminoácido. No encontramos en la literatura informes sobre las tortillas en sí ni sobre otros alimentos tratados del mismo modo, y creemos que los cambios observados, aunque pueden parecer excesivos, no son producidos simplemente al calentarlos toda vez que la preparación de la tortilla requiere calentar el maíz con una solución $\text{Ca}(\text{OH})_2$ durante casi una hora y cocinarla nuevamente en el "comal". Los cambios de aminoácidos pueden ser debidos no sólo a la acción del calor sino a la racemización parcial de las proteínas tal como observaron Levene y Bass ('28) en la caseína calentada con diferentes soluciones de NaOH.

SUMARIO Y CONCLUSIONES

1. Se eliminaron 9 aminoácidos esenciales en el maíz, tortillas, habas (cocidas y sin cocinar), arroz (cocido y sin cocinar) y pulque, utilizando el método microbiológico.
2. Comparando con el huevo íntegro, el maíz, las tortillas y el arroz sin cocinar resultaron deficientes en lisina. El maíz y las tortillas resultaron también deficientes en triptófano y las habas en metionina.
3. Al preparar las tortillas ocurren cambios considerables en el triptófano, la histidina, la trionina, y la arginina del maíz, según indican los análisis microbiológicos, utilizando *Streptococcus faecalis*. Las habas cocidas casi no muestran tales cambios. Igualmente el arroz permanece esencialmente igual después de cocido.
4. En el pulque se hallaron cantidades apreciables de aminoácidos, especialmente lisina.

REFERENCIAS

- Anderson, R. K.; J. Calvo; G. Serrano; y G. C. Payne—1946: Estado de nutrición de los vecinos de la Congregación Ejidal de Yustes. Inédito.

- Block, R. J.—1945: *Advances in Protein Chemistry*. Academic Press, Inc., New York, N. Y., 11: 119.
- Block, R. J., y D. Bolling—1944: Nutritional opportunities with amino acids. *J. Am. Diet. Assn.*, 20: 69.
- 1945: The amino acid composition of proteins and foods. Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill.
- Block, R. J.; P. R. Cannon; R. W. Wissler; C. H. Steffe, Jr.; R. L. S. Straube; L. E. Frazier; y R. L. Woodridge—1946: The effects of baking and toasting on the nutritional value of proteins. *Arch. Biochem.*, 10: 295.
- Block, R. J.; D. B. Jones; y C. E. E. Gersdorff—1934: The effect of dry heat and dilute alkali on the lysine content of casein. *J. Biol. Chem.*, 105: 667.
- Calvo, J.; G. Serrano; y G. C. Payne—1946: Estudio sobre el estado de nutrición de un grupo de personas vecinas del pueblo de Capula, Estado de Michoacán. Inédito.
- Cravioto, B. R.; R. Anderson; E. E. Lockhart; F. de P. Miranda; y R. S. Harris—1945a: Nutritive value of the Mexican tortilla. *Science*, 102: 91.
- Cravioto, B. R.; E. E. Lockhart; R. K. Anderson; F. de P. Miranda; y R. S. Harris—1945b: Composition of typical Mexican foods. *J. Nutrition*, 29: 317.
- Cravioto, B. R., y F. de P. Miranda—1947: Resultado de 281 análisis de Alimentos Mexicanos. Publicaciones del Instituto Nacional de Nutriología, México.
- Doty, D. M.—1941: Methods for estimation of some amino acids in corn grain. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 13: 169.
- Doty, D. M.; M. S. Bergoll; H. A. Nash; y A. M. Brunson—1946: Amino acids in corn grain from several single cross hybrids. *Cereal Chem.*, 23: 199.
- Elvehjem, C. A.—1946: Future studies in nutrition. *Nutrition Rev.*, 4: 1.
- Giral, J.—1943: El mínimo proteico en la dieta humana. *Arch. Med. Mex.* 1: 1.
- Giral, J., y R. O. Cravioto—1941: La treonina del maíz. *Ciencia*, 2: 204.
- Greaves, E. O.; A. F. Morgan; y M. K. Loveen—1938: Effect of amino acid supplements and variation in temperature and duration of heating upon the biological value of heated casein. *J. Nutrition*, 16: 115.
- Horn, M. J.; D. B. Jones; y A. H. Blum—1946: Microbiological determination of methionine in proteins and foods. *J. Biol. Chem.*, 166: 321.
- 1947a: Microbiological determination of lysine in proteins and foods. *Ibid.* 169: 71.
- 1947b: Microbiological determination of threonine in proteins and foods. *Ibid.* 169: 739.
- 1947c: Microbiological determination of valine in proteins and foods. *Ibid.* 170: 719.
- 1948a: Microbiological determination of histidine in proteins and foods. *Ibid.* 172: 149.
- 1948b: Microbiological determination of arginine in proteins and foods. *Ibid.* 176: 59.
- 1948c: Microbiological determination of phenylalanine in proteins and foods. *Ibid.* 176: 679.
- Jones, D. B.; C. E. E. Gersdorff; y S. Phillips—1938: Proteins of the black beans of the Mayas, *Phaseolus vulgaris*. *Ibid.* 122: 745.
- Kik, M. C.—1941: The nutritive value of the proteins of rice and its by-products. III. Amino acid content. *Cereal Chem.*, 18: 349.
- Krehl, W. A.; L. M. Henderson; J. de la Huerga; y C. A. Elvehjem—1946: Relation of amino acid imbalance to niacin-tryptophan deficiency in growing rats. *J. Biol. Chem.*, 166: 531.

- Levene, P. A., y L. W. Bass—1928: Studies on racemization. VII. The action of alkali on casein. *Ibid.* 78: 145.
- Miranda, F. de P.—1947: La alimentación en México. Publicaciones del Instituto Nacional de Nutriología, México.
- Mitchell, H. H., y R. J. Block—1946: Some relationships between the amino acid content of proteins and their nutritive value for the rat. *J. Biol. Chem.*, 163: 599.
- Olcott, H. S., y T. D. Fontain—1941: The effect of autoclaving on the nutritive value of the proteins in cottonseed meal. *J. Nutrition*, 22: 431.
- Patton, A. R., E. G. Hill y E. M. Foreman—1948: Amino acid impairment in casein heated with glucose. *Science*, 107: 623.
- Schweigert, B. S.—1948: Amino acid content of foods. *J. Am. Diet. Assn.*, 24: 939.
- Stokes, J. L., M. Gunnes; L. M. Dwyer; y M. Caswell—1945: Microbiological methods for the determination of amino acids. II. A uniform assay for the 10 essential amino acids. *J. Biol. Chem.*, 160: 35.
- United States Department of Agriculture—1931: Factors for converting percentage of nitrogen in foods and feeds into percentage of proteins. Circular 183.