



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA
REGIONAL

**VALOR NUTRITIVO Y NUTRACÉUTICO EN COLECTAS
DE HABA (*Vicia faba* L.) DE LOS PRINCIPALES ESTADOS
PRODUCTORES DE MÉXICO**

PAULA BEATRIZ FUENTES HERRERA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2016



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

SUBDIRECCIÓN DE EDUCACIÓN


CAMPUE- 43-2-03

CAMPUS PUEBLA

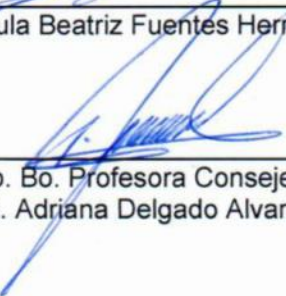
CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **Paula Beatriz Fuentes Herrera**, alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección de la Profesora **Dra. Adriana Delgado Alvarado**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Valor nutritivo y nutracéutico en colectas de haba (*Vicia faba* L.) de los principales estados productores de México**, y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, la Consejera y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla, 11 de abril del 2016.



Paula Beatriz Fuentes Herrera




Vo. Bo. Profesora Consejera
Dra. Adriana Delgado Alvarado

La presente tesis, titulada: **Valor nutritivo y nutracéutico en colectas de haba (*Vicia faba* L.) de los principales estados productores de México**, realizada por la alumna: **Paula Beatriz Fuentes Herrera**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

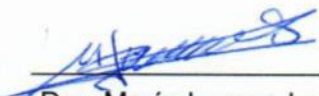
MAESTRA EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA: 
Dra. Adriana Delgado Alvarado

ASESOR: 
Dr. Braulio Edgar Herrera Cabrera

ASESORA: 
Dra. María Lorena Luna Guevara

ASESOR: 
Dr. José Isabel Olvera Hernández

Puebla, Puebla, México, 27 de abril de 2016

Valor nutritivo y nutracéutico en colectas de haba (*Vicia faba* L.) de los principales estados productores de México

Paula Beatriz Fuentes Herrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

Vicia faba L. es una leguminosa importante por el alto valor nutricional de sus semillas, las cuales son ricas en proteína y carbohidratos. En México, es escasa la información sobre los componentes nutricionales y funcionales de los genotipos de esta especie que se cultivan en las principales zonas productoras. Tampoco se sabe sobre la variabilidad de componentes de la semilla, cuando factores como el genotipo y ambiente intervienen como una variable de estudio. Por lo que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la concentración de proteína total (PT), aminoácidos solubles totales (AAST), oligosacáridos (OLIG), isoflavonas (IFs) y fibra dietética total (FDT) de ocho colectas de habas provenientes de los principales estados productores de México, considerando el efecto del ambiente, año de cosecha y genotipo. Además, mediante una entrevista se conoció la percepción de los productores de Ciudad Serdán Puebla, sobre el consumo y uso de las habas que cultivan. Las semillas de haba maduras se molieron, con la harina obtenida se realizaron los análisis de PT por método Kjeldahl, AAST por espectrofotometría, OLIG (sacarosa, SAC; rafinosa, RAF; estaquiosa, EST y verbascosa, VER) se determinaron por HPLC y FDT con el Kit TDF de Megazyme. Para el análisis de las IFs, daidzeína y genisteína, se utilizó el tallo de plántulas de haba de cuatro semanas; mediante cromatografía en capa fina se detectó su presencia y la cuantificación se hizo por HPLC. Los resultados mostraron variación en los contenidos de PT (25 – 30 %), AAST (411 – 677 mg 100 g⁻¹) y FDT (28 – 33 %). Hubo diferencias altamente significativas en el contenido de OLIG. Se evidenció la presencia y concentración de las IFs, donde daidzeína fue el principal metabolito que estuvo presente en un rango de 34.82 – 59.98 mg kg⁻¹. El *factor ambiente* tuvo efecto en el contenido de algunos de los componentes (AAST, FDT, SAC, EST y VER). En *factor año de cosecha*, la semilla después de seis años de almacenamiento no mostro diferencias en la calidad nutritiva y/o funcional. En *factor genotipo/ambiente* de 14 muestras, hubo diferencias altamente significativas, y mediante un análisis de componentes principales y cluster se detectaron tres grupos de colectas, las cuales por sus características pueden ser designadas para usos diferentes. Los productores mencionaron que el uso que le dan al haba es principalmente para consumo humano y para la venta. Se consume en verde y en grano y suelen comerla una vez al mes. Mencionan, que les genera un aporte nutrimental; pero ignoran los beneficios que les provee a la salud.

Palabras clave: fibra dietética, isoflavonas, oligosacáridos, percepción de uso y consumo, *Vicia faba* L.

**Nutritional and nutraceutical value at accessions of broad bean
(*Vicia faba* L.) from main producing states of Mexico**

Paula Beatriz Fuentes Herrera, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2016

Vicia faba L. is an important legume because of the high nutritional value of its seeds, which are rich in protein and carbohydrates. In Mexico, information on the nutritional and functional components of the genotypes of this species grown in the major producing areas is limited. It is also unclear about the variability of components of the seed, when factors such as genotype and environment are involved as a variable under study. Therefore this study aimed to determine the concentration of total protein (TP), total soluble amino acids (TSAA), oligosaccharides (OLIG), isoflavones (IFs) and total dietary fiber (TDF) of eight accessions of broad beans from the main producing states of Mexico, considering the effect of the environment, crop year and genotype. In addition, through an interview the perception of the producers from Ciudad Serdán Puebla, on the consumption and use of broad bean that they grow became known. Broad bean mature seeds were milled, the flour obtained was used for analyzing TP by Kjeldahl, TSAA by a spectrophotometry method, OLIG (sucrose, SUC; raffinose, RAF; stachyose, EST and verbascose, VER) by HPLC and FDT was determined with the Megazyme TDF Kit. The stem of broad bean seedlings of four weeks was used for analyzing the IFs, daidzein and genistein, its presence was detected by thin layer chromatography and quantification was done by HPLC. There were variation in the contents of TP (25 - 30%), TSAA (411-677 mg 100 g⁻¹) and FDT (28 - 33%). There were highly significant differences in the content of OLIG. The presence and concentration of the lfs was showed, where daidzein was the major metabolite in a range of 34.82- 59.98 mg kg⁻¹. The environment factor had an effect on the content of some of the components (TSAA, TDF, SUC, EST and VER). In the of crop year factor, the seed after six years of storage did not show differences in the nutritional and/or functional quality. In genotype/environment factor of 14 samples, there were highly significant differences, and through a principal component analysis and cluster three groups of accessions weredetected, which by its characteristics may be designated for different uses. Producers mentioned that the use they give to the broad bean is mainly for human consumption and for sale. It is consumed in green and dry grains and usually eating it once a month. They mention that the broad bean gives them a nutritional contribution; but they ignore the benefits it provides them to health.

Keywords: dietary fiber, isoflavones, oligosaccharides, use and consumer perception, *Vicia faba* L.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis:

A **Dios**, por darme la fortaleza para seguir adelante y guiarme en todos los aspectos de la vida.

A mi hijo **Eder Paul** por ser mi mayor motivación de ser mejor mamá, profesionista y persona cada día, hijo aunque aún eres pequeñito, sé que te das cuenta de lo mucho que papá y yo te queremos y que nos esforzamos por darte un mejor futuro.

A mi esposo **Edgar** por apoyarme y ser muy paciente en esta etapa de formación, amor este logro también es tuyo.

A mi tía **Rosa María Herrera Mora †**, tía pienso siempre que me has guiado y cuidado en este proceso de formación, primero porque nos queremos mucho y segundo porque te fuiste cuando estaba en el proceso de querer ingresar a la maestría. Gracias, sé que seguirás abogando por mí y mi familia donde quiera que te encuentres.

A mis padres **María Luisa** y **Roberto**, les agradezco el ejemplo que me han dado, el apoyo y la libertad que siempre me han brindado en decidir en mi vida, ustedes también son parte de mi esfuerzo de cada día, los amo.

A mi hermana **Alejandra** y su linda familia **Yahir, Itzel** y **Yahirsito, Ale** no sabes cuánto admiro tu fortaleza y aunque no te lo diga, también me preocupo por ustedes, los quiero mucho. Yahirsito y tu son parte de mi motivación en seguir preparándome.

A mis suegros **Juana** y **Domingo** por apoyarnos a mí y a Edgar en cuidar y ayudarnos a educar a nuestro pequeño.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a:

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por brindarme la oportunidad de seguir con mis estudios becada, y a su vez, me di cuenta que la investigación es parte de lo que quiero desarrollar en mi vida.

Al **Colegio de Postgraduados Campus Puebla** por enseñarme a valorar y querer el campo Mexicano, por su apoyo financiero con el fideicomiso de Fondos para la investigación científica y desarrollo tecnológico del centro público de investigación.

La **Dra. Patricia Ramírez Carrasco** por enseñarme a utilizar el material, equipo, sustancias y solventes de un laboratorio. Paty, gracias por escucharme y motivarme cada vez que me preocupaba y angustiaba por mis análisis, en verdad eran un aliciente para mí.

El apoyo proporcionado al **Colegio de Postgraduados campus Montecillos**, especialmente al área de **Postcoscha del Postgrado de Fruticultura**, por haberme permitido realizar los análisis de oligosacáridos con el equipo Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC). Principalmente el agradecimiento es para la **Dra. Ma. de Lourdes Arevalo Galarza** y a la **M.C. Cecilia García Osorio**, cuyas sugerencias y apoyo fueron indispensables para este análisis.

El apoyo recibido por parte de la **Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP)**, especialmente a la facultad de **Ingeniería en Alimentos** por permitirme realizar los análisis de isoflavonas en tallos de colectas de haba con el equipo Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución (HPLC). Principalmente agradezco al **Dr. Genaro Amador Espejo** por su ayuda y sugerencias para el manejo y las condiciones del equipo.

A la estudiante de **TSU Silvia G. Méndez Mora** por la ayuda que me brindo en realizar los análisis de fibra dietética total y aminoácidos solubles totales, en su estancia para obtener su título.

A los productores de haba de Ciudad Serdán, Puebla, que me permitieron entrar a sus hogares, entrevistarlos y conocer un poquito más de su cultivo.

A mis compañeros de laboratorio **M.C. Reyna Xochipa, I.A. Lupita Andrade, M.C. Alma Cuellar, M.C. Diego Ibarra, M.C. Alfricia de los Santos**, por sus consejos, motivación y la convivencia y amistad que generamos en el laboratorio.

A los integrantes de mi consejo particular:

La **Dra. Adriana Delgado Alvarado** por el ejemplo que me dio en la dedicación y pasión por la investigación, por darme la oportunidad de desarrollar una investigación original e interesante, por brindarme su apoyo, darme sugerencias y consejos en la parte experimental. Por la amistad y confianza que se generó.

Al **Dr. Braulio Edgar Herrera Cabrera**, por el apoyo que me brindó en la parte estadística, por compartirme sus experiencias y conocimientos. Por darme la oportunidad de desenvolverme como profesora y evaluadora de un artículo, por motivarme a seguir adelante, por su amistad, por eso y más, gracias Dr. Edgar por creer en mí.

Al **Dr. José Isabel Hernández Olvera**, le agradezco el gran apoyo que recibí en realizar el estudio de la parte social, gracias por escucharme, aconsejarme, guiarme y enseñarme a desarrollar una investigación cualitativa, fue un reto para mí, estoy más enfocada en el área técnica. En este proceso de enseñanza lo he apreciado mucho y le he brindado mi amistad sincera.

La **Dra. Ma. Lorena Luna Guevara** por escucharme y aconsejarme en seguir adelante con mis estudios de maestría, por el apoyo que me brindo en la parte experimental de cuantificación de isoflavonas. Por la convivencia y amistad que ha existido desde mis estudios de licenciatura.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	xii
INDICE DE FIGURAS	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
I. JUSTIFICACIÓN	3
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
III. HIPÓTESIS	6
IV. OBJETIVOS	7
V. LITERATURA CITADA	8
CAPITULO I. ANTECEDENTES	11
<hr/>	
1. Valor nutritivo y nutracéutico	11
1.1 Nutrición contra prevención de enfermedades	11
1.2 Definición de alimento nutracéutico y alimento funcional	11
1.3 Componentes de alimentos utilizados como nutracéuticos y/o alimentos funcionales y su relación benéfica con enfermedades	13
1.4 Las leguminosas como alimentos funcionales y nutricionales	13
2. Haba (<i>Vicia faba</i> L.)	15
2.1 Leguminosas	15
2.2 La leguminosa haba	16
2.3 El origen de <i>Vicia faba</i> L.	17
2.4 Organización Taxonómica del haba	17
2.5 Variedades de haba que se cultivan en México	18
3. El cultivo de haba	19
3.1 Estados productores de haba en México	19
3.2 Producción de <i>Vicia faba</i> L. de los principales estados productores	19
3.3 Principales municipios productores de haba del estado de Puebla	19
4. Componentes nutritivos y funcionales encontrados en las leguminosas	21
4.1 Oligosacáridos	21

4.1.1 Los Oligosacáridos	21
4.1.2 Aplicación de los Oligosacáridos en productos alimenticios	22
4.1.3 Oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR)	23
4.1.4 OFR en las leguminosas	23
4.1.5 OFR contenidos en el haba	26
4.1.6 Estructura y biosíntesis de los OFR	27
4.1.7 Los OFR como factores anti-nutricionales	28
4.1.8 Los OFR y su función prebiótica	30
4.2 Fibra dietética	31
4.2.1 Componentes y definición de fibra dietética	31
4.2.2 Fibra dietética en la dieta	32
4.2.3 Estructura química, clasificación y tipos de fibra dietética	33
4.2.4 Fibra dietética en leguminosas	36
4.2.5 La función de la fibra dietética en el organismo	37
4.2.6 El uso de la fibra dietética en productos alimenticios	39
4.3 Isoflavonas	40
4.3.1 Los flavonoides	40
4.3.2 Las isoflavonas y sus características químicas	41
4.3.3 Isoflavonas, fitoestrógenos y su relación con la salud	42
4.3.4 Biosíntesis de las Isoflavonas	45
4.3.5 Isoflavonas en leguminosas	47
4.3.6 Extracción y análisis de isoflavonas	48
4.4 Proteínas y aminoácidos	49
4.4.1 Proteínas y su función biológica	49
4.4.2 Aminoácidos esenciales, no esenciales y su relación con la calidad proteica	49
4.4.3 Proteínas y aminoácidos en el haba	55
5. Investigaciones de componentes nutricionales y funcionales en especies vegetales relacionadas con el efecto año de cultivo, genotipo, ambiente e interacción genotipo/ambiente	56
6. Literatura citada	60

CAPTULO II. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS NUTRICIONALES	71
<hr/>	
Y FUNCIONALES EN COLECTAS DE HABA (<i>Vicia faba</i> L.) Y SUS EFECTOS POR EL AMBIENTE, AÑO DE COLECTA, GENOTIPO Y LA INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE	
1. Introducción	71
2. Materiales y métodos	72
3. Resultados y discusión	87
4. Conclusiones	114
5. Literatura citada	116
CAPITULO III. PERCEPCIÓN NUTRICIONAL Y/O FUNCIONAL DEL	121
<hr/>	
CONSUMO Y USO DE HABA (<i>Vicia faba</i> L.), EN LA COMUNIDAD DE CIUDAD SERDÁN, PUEBLA	
1. Introducción	121
2. Metodología	123
3. Resultados y discusión	124
4. Conclusiones	136
5. Literatura citada	138
CONCLUSIONES GENERALES	141
ANEXOS	143

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.1	Alimentos y componentes de alimentos beneficiosos para la salud.....	14
1.2	Taxonomía del haba.....	17
1.3	Características de diferentes variedades de <i>Vicia faba</i> L.....	18
1.4	Producción agrícola, haba verde (riego más temporal) 2013.....	20
1.5	Producción agrícola, haba de grano (riego más temporal) 2013.....	20
1.6	Principales municipios productores de haba verde en el estado de Puebla.....	21
1.7	Principales municipios productores de haba de grano en el estado de Puebla.....	21
1.8	Principales constituyentes de la fibra dietética.....	32
1.9	Clasificación de componentes de fibra basados en la fermentabilidad.....	34
1.10	Fibra dietética total en semillas de leguminosas	37
1.11	Funciones biológicas de las proteínas.....	50
1.12	Aminoácidos esenciales y no esenciales encontrados en las proteínas.....	51
1.13	Contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales en <i>Vicia faba</i> L.....	54
1.14	Contenido de oligosacáridos en leguminosas.....	57
2.1	Colectas de haba pertenecientes a los principales estados productores de México.....	73
2.2	Evaluación de dos colectas de haba en dos ambientes en el Municipio de Tlachichuca Puebla.....	75
2.3	Evaluación de una colecta de haba en tres años diferentes municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.....	75
2.4	Evaluación de siete colectas de haba sembradas en dos localidades Tlachichuca y San Cayetano.....	75
2.5	Análisis de varianza de compuestos nutricionales y/o funcionales de <i>Vicia faba</i> L. de acuerdo al <i>Factor Ambiente</i> , <i>Factor Año de Cosecha</i> (2006, 2011 y 2012) y <i>Factor Genotipo/Ambiente</i>	91

2.6	Comparación de medias respecto a Tukey de los componentes nutricionales y/o funcionales de <i>Vicia faba</i> L. de acuerdo al <i>Factor Ambiente</i> , <i>Factor Año de Cosecha</i> (2006, 2011 y 2012) y <i>Factor Genotipo/Ambiente</i>	92
2.7	Coefficientes de correlaciones entre componentes nutricionales y/o funcionales en colectas de <i>Vicia faba</i> L., en el ambiente de San Cayetano.....	99
2.8	Coefficientes de correlaciones entre componentes nutricionales y/o funcionales en colectas de <i>Vicia faba</i> L., en ambiente de Tlachichuca.....	99
2.9	Análisis de varianza de isoflavonas en tallo de <i>Vicia faba</i> L.....	110
2.10	Comparación de medias respecto a Tukey en análisis de isoflavonas en tallo de <i>Vicia faba</i> L.....	111
3.1	Uso del haba que le da el productor.....	127
3.2	Preferencia de como consumen el haba.....	129
3.3	Consumo de haba con otros alimentos.....	130
3.4	Consumo de haba con o sin cáscara en la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.....	131
3.5	Síntomas provocados por el consumo de haba.....	133

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.1	Estructura química de los principales α -oligosacáridos presentes en las leguminosas.....	24
1.2	Biosíntesis de α -Galactosidos. GST: galactosil transferasa; RS: rafinosa sintasa; STS: estaquirosa sintasa.....	28
1.3	Estructura de algunos compuestos clasificados que integran la fibra.....	33
1.4	Clasificación de componentes de fibra dietética acorde a su solubilidad basado en el método Total Dietary Fiber (TDF) propuesto por la AOAC.....	35
1.5	Representación esquemática que muestra la relación entre las bacterias colónicas y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), y su relación con los efectos fisiológicos.....	39
1.6	Estructura básica de los flavonoides y su sistema de numeración.....	41
1.7	Estructura química de flavonoides y las principales fuentes de alimentos en donde se pueden encontrar.....	42
1.8	Estructura química de doce isómeros de isoflavonas.....	43
1.9	Semejanza de la estructura química de las agliconas con el principal estrógeno encontrado en el ser humano.....	44
1.10	Vía metabólica de los fenilpropanoides.....	46
1.11	Estructura general de los 20 aminoácidos que conforman las proteínas.....	50
1.12	Estructura de tres aminoácidos esenciales.....	52
2.1	Municipios donde se realizaron las siembras de las ocho colectas de haba.....	74
2.2	Dendograma de variables ambientales de las localidades de Tlachichuca y Zoapan pertenecientes al municipio de Tlachichuca, Puebla.....	77
2.3	Dendograma de variables ambientales de las localidades de Tlachichuca y Ciudad Serdán (San Cayetano) pertenecientes a los municipios de Tlachichuca y Chalchicomula de Sesma.....	77
2.4	Obtención de harina de haba.....	78
2.5	Imágenes del proceso de obtención de los tallos de las colectas de haba.....	84

2.6	Imágenes del proceso de extracción de isoflavonas.....	86
2.7	Resultados de la combinación genotipo/ambiente de dos colectas de haba sembradas en Zoapan y Tlachichuca.....	93
2.8	Interacción genotipo/ambiente de los resultados de oligosacáridos en dos colectas de haba (C-89 y C-181) en dos ambientes diferentes.....	95
2.9	Porcentaje de proteína total, aminoácidos solubles totales, fibra dietética total y oligosacáridos de la colecta de haba C-181 sembrada en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla durante tres años diferentes.....	95
2.10	Porcentaje de proteína total y fibra dietética total de siete colectas de <i>Vicia faba</i> L. sembradas en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla.....	97
2.11	Interacción genotipo/ambiente de los resultados de oligosacáridos del genotipo C-288 en dos ambientes.....	98
2.12	Dispersión de la interacción genotipo/ambiente de dos colectas de <i>Vicia faba</i> L. sembradas en Tlachichuca y Zoapan, basadas en los primeros tres componentes principales, respecto a las variables nutricionales y/o funcionales.....	101
2.13	Dendograma de la interacción genotipo/ambiente en el análisis de <i>Factor Ambiente</i>	102
2.14	Dispersión de la variación de compuestos nutrimentales y/o funcionales de la C-181 sembrada en tres años diferentes.....	103
2.15	Dendograma de la colecta C-181 en el análisis de Factor Año de Colecta, año 2006, 2011 y 2012.....	104
2.16	Dispersión de la interacción genotipo/ambiente de siete colectas de <i>Vicia faba</i> L. sembradas en Tlachichuca y San Cayetano, basada en los primeros tres componentes principales, respecto a las variables nutricionales y/o funcionales.....	106
2.17	Dendograma de la interacción genotipo/ambiente de catorce muestras de haba, sembradas en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla y Tlachichuca, Puebla.....	107
2.18	Placa de cromatografía vista en lámpara UV.....	109
2.19	Contenido total de isoflavonas en tallos de ocho colectas de <i>Vicia faba</i> L.....	112
3.1	Variedades de haba que los productores conocen y siembran en la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.....	125
3.2	Principales características que el productor mencionó que tiene su mejor haba.....	126

3.3	Frecuencia del consumo de haba de los productores de la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.....	128
3.4	Percepción de los productores sobre el consumo de haba recién cosechada y el haba almacenada.....	134
3.5	Opinión de los productores de haba sobre sí el consumo influye en la salud para evitar tener alguna enfermedad o síntoma.....	136

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

En México, *Vicia faba* L. es un importante recurso filogenético principalmente en las zonas de los Valles Altos (ASERCA, 2001). A pesar de que no es una especie nativa, se ha generado en el país un segundo centro de diversidad genética (FAO, 2006), por el proceso de adaptación y domesticación que han realizado los agricultores (Evans, 1993).

Los Estado de México, Puebla y Tlaxcala, son los de mayor producción de haba (ASERCA, 2001), sin embargo, Puebla se destaca por ser el principal productor nacional de grano de haba (SIAP, 2014), y cuenta con una amplia variabilidad genética que poco ha sido valorada, cuantificada y utilizada agronómicamente (Herrera-Cabrera *et al.*, 2006). En el área de fitomejoramiento del Campus Puebla del Colegio de Postgraduados, las investigaciones en *Vicia faba* se empezaron en el año 2000, para lo cual, se realizó un proceso de mejoramiento a través de la selección de semilla de colectas de haba provenientes de diferentes localidades de los principales estados productores de México, con el propósito de identificar material genético con buenos rendimientos, sanidad, características morfológicas, que se adaptaran a diferentes ambientes y además fueron escogidas con base en la percepción de agrado del agricultor productor. De aproximadamente 300 colectas, a través de los diferentes estudios realizados, a la fecha se han seleccionado ocho colectas de haba como materiales sobresalientes.

Estudios recientes han demostrado que las leguminosas tienen influencia positiva en la salud, por los componentes bioactivos que poseen (Campos-Vega *et al.*, 2010), de manera que al ser incluidas en la dieta pueden proporcionar ciertos beneficios al consumidor (Madar y Estark, 2002; Duranti, 2006). El haba (*Vicia faba* L.), es valiosa por poseer compuestos nutricionales y/o funcionales como proteína (26 %) (Cerning *et al.*, 1975), fibra dietética (20 - 26 %) (Giczewska y Borowska, 2003), oligosacáridos como los α -galactosidos (Dini *et al.*, 1989) y fitoquímicos fenólicos como las isoflavonas (Koufman *et al.*, 2007). Al respecto, se sabe que estos compuestos tienen efectos potencialmente beneficiosos para la salud, desde reducir ciertos padecimientos hasta prevenir enfermedades crónicas como cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Silveira *et al.*, 2003; Trinidad *et al.*, 2010; Tahir *et al.*, 2011).

Las ocho colectas de haba del germoplasma seleccionado, se sembraron, cultivaron y cosecharon en ambientes y en años diferentes en la región Oriente de Puebla, por lo que en el presente estudio, además de contar con una evaluación agronómica, se analizan sus componentes nutricionales y/o funcionales para identificar colectas de haba con las mejores características para consumo humano y diferenciarlas para potenciar los atributos en las que sean sobresalientes.

El interés de esta investigación es debido a que en México y principalmente a nivel estatal, son escasos los estudios relacionados sobre el valor nutritivo y/o funcional en colectas de haba provenientes de los principales estados productores. Además se desconocen las interacciones que estos componentes pueden llegar a tener con factores como el ambiente, año de cosecha y genotipo.

Para complementar esta investigación, en el municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla, conocido como “Ciudad Serdán”, uno de los principales municipios de mayor producción de haba de grano en el estado (SIAP, 2014), se estudió la percepción de los productores que cultivan haba para conocer acerca del consumo y el uso de las variedades que cultivan, además se describe la opinión de los productores, sí mediante el consumo de haba tienen algún beneficio en la salud por la ingesta de esta leguminosa.

El trabajo consta de tres capítulos, el Capítulo I contiene antecedentes de estudios que se relacionan con el tema de investigación, en el Capítulo II se presentan los análisis bioquímicos de componentes considerados funcionales (fibra dietética, oligosacáridos e isoflavonas) y nutritivos (proteína total y aminoácidos solubles totales) realizados en las ocho colectas de haba sobresalientes, para lo cual, dos colectas son evaluadas con base en dos ambientes, una colecta es analizada en tres años diferentes de cosecha (2007, 2011 y 2012) y siete colectas son evaluadas con base en el genotipo y en dos ambientes diferentes. El Capítulo III, contiene los resultados obtenidos de la investigación social, la cual se llevó a cabo para conocer la percepción del consumo y uso del haba por medio de entrevistas a productores pertenecientes del municipio de Ciudad Serdán, Puebla. Con los datos obtenidos, se realizaron estadísticos descriptivos para analizar los resultados de las entrevistas.

II. JUSTIFICACIÓN

Las leguminosas aportan nutrición relevante por ser una gran fuente de proteínas (Duranti y Gius, 1997). Son ampliamente cultivadas en todo el mundo y juegan un importante rol en la dieta de la mayoría de la gente, pues son consideradas el segundo alimento de mayor consumo después de los cereales (Singh *et al.*, 2004). También en varias regiones, las leguminosas son el único aporte proteico de consumo para las personas (Duranti y Gius, 1997).

Las leguminosas como el haba, se consideran alimentos ideales para cumplir con las recomendaciones dietéticas, ya que además de aportar proteínas, son una buena fuente de almidón, fibra dietética, minerales (Ca, Fe, K, Mg y Zn), son bajas en sodio y no contienen colesterol (Madar y Stark, 2002). *Vicia faba* L. se caracteriza por ser importante en la alimentación, debido al alto valor proteico que aporta, el cual es superior en comparación con otras fuentes de alimentos como el maíz y el frijol (ASERCA, 2001) que son sumamente consumidos en México.

De acuerdo al informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos en México (2006), se menciona que el haba debería tener una mayor atención como recurso genético, por lo que se vuelve un cultivo significativo e interesante para seguir desarrollando investigación multidisciplinar. Las investigaciones que se han realizado del cultivo de haba en México, se encuentran mayormente enfocadas en el área agronómica. Son limitados los estudios de componentes que la integran (fibra dietética, proteína, aminoácidos solubles, oligosacáridos e isoflavonas), y que pueden proporcionar un beneficio fisiológico al consumidor, mientras que en otros países, las leguminosas son sumamente estudiadas por estos componentes, al tratar de comprobar su aporte como alimentos funcionales y la reducción de riesgo de contraer enfermedades (Tosh y Yada, 2010; Trinidad *et al.*, 2010; Geil y Anderson, 2013).

Dado que las leguminosas como el haba, contienen componentes importantes para la salud del consumidor, son ampliamente consumidas especialmente en zonas donde las legumbres son la principal fuente de proteína en el mundo. Sin embargo, en México son muy limitados los estudios de *Vicia faba* L. sobre su calidad nutricional y funcional, por lo

que requiere mayor atención. En esta investigación se fortalece el conocimiento sobre el valor nutritivo y nutracéutico del haba, además de que se da a conocer si factores como el ambiente, año de cosecha y el genotipo, tienen algún efecto en estos componentes. En México no se cuenta con literatura e investigación documentada sobre la variación que existe de componentes nutricionales y funcionales en genotipos de haba, que se cultivan en los principales estados productores. Tampoco se cuenta con información documentada sobre la percepción que tienen los productores de haba, del consumo y uso de las variedades que cultivan en la región de Ciudad Serdán, Puebla.

En esta investigación, además de conocer la variación que existe entre componentes nutritivos y funcionales, se puede caracterizar e identificar colectas con contenidos adecuados para consumo humano, debido a que algunos componentes que se analizarán, se sabe que dependiendo de las cantidades que contengan pueden tener un efecto favorable o no en el organismo. La identificación de las colectas por sus componentes químicos permitirá recomendarlas para potenciar su uso como proveedoras sobresalientes de compuestos nutricionales y/o funcionales, y eventualmente fomentar a la industria y a los agricultores a producir un producto de valor agregado. También con el estudio social, se obtendrá información de los productores que cultivan haba, teniendo un enfoque más amplio sobre como los productores de Ciudad Serdán Puebla, consumen y usan su recurso fitogenético, y a su vez, inferir si ellos detectan algún beneficio en la salud por su consumo.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque en otros países se lleva a cabo investigaciones relacionadas a los componentes de leguminosas que pueden llegar a tener un efecto favorable en la salud. En México, no se cuenta con información que sustente cual es la variación de componentes nutricionales y funcionales de los genotipos de haba que se cultivan. Además, se ha demostrado que puede existir variabilidad de componentes en los alimentos cuando factores como el genotipo y ambiente intervienen como una variable de estudio (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2005; Valdés, 2006; Gangola *et al.*, 2013). Para el caso de esta especie, en el país no hay información de ese tipo, sobre todo, no existen estudios en zonas donde la producción es la base principal del ingreso económico para las familias campesinas, y tener ese conocimiento puede contribuir a una estrategia de potencializar o minimizar componentes de *Vicia faba* L. que pueden ser o no benéficos para el consumidor. Al igual, una faltante de información sobre el cultivo, es conocer la percepción de los productores de haba sobre el consumo y uso que le dan a sus variedades.

El propósito de esta investigación es que se conozca el valor nutritivo y/o funcional en colectas de haba provenientes de los principales estados productores de México, así como saber cuál es la interacción de los componentes si se siembran en ambientes diferentes, o que sucede cuando son almacenadas las colectas por largos periodos de tiempo, y conocer si existen diferencias o semejanzas de los componentes entre genotipos. Por lo que surgen preguntas como: ¿Cuál es el efecto de los factores como el ambiente, año de cosecha y genotipo sobre los componentes nutricionales y/o funcionales de colectas de haba? Asimismo, la intención de este proyecto, es conocer cuál es la percepción de los productores sobre el consumo y el uso que se tiene de este cultivo en el principal municipio productor del estado de Puebla. Además, saber o inferir si mediante el consumo de haba tienen algún beneficio en la salud. Ya que a pesar de que las leguminosas son consideradas alimentos funcionales se desconoce ¿Cuál es la percepción que tienen los productores de haba de Ciudad Serdán, Puebla, sobre el consumo y uso de sus variedades?, y ¿Si por su ingesta los productores detectan algún beneficio en la salud?

IV. HIPÓTESIS

1. El ambiente, año de colecta y el genotipo tienen alguna influencia en el contenido de aminoácidos, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética en las colectas de haba evaluadas.
2. Los productores de la comunidad de Ciudad Serdán, Puebla, tienen conocimiento sobre las características y usos del haba, pero desconocen el valor nutricional y/o funcional que provee al ser consumida.

V. OBJETIVOS

a. Objetivo general

Estudiar la concentración de proteína, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética en colectas de haba (*Vicia faba* L.), considerando el efecto del ambiente, año de colecta y genotipo, así como conocer la percepción de los productores de la comunidad de Ciudad Serdán Puebla, sobre el consumo y uso de las variedades de haba que cultivan.

b. Objetivo particular

1. Evaluar en la harina de haba la cantidad de proteína, aminoácidos solubles totales y fibra dietética total.
2. Determinar en la harina de haba, el contenido oligosacáridos, a través de la presencia de sacarosa y α -galactosidos (rafinosa, verbascosa y estaquiosa).
3. Conocer en el tallo del haba, la presencia y concentración de isoflavonas a través de sus principales metabolitos (genisteína y la daidzeína).
4. Identificar en las colectas de haba como el ambiente, el año de colecta y el genotipo tiene algún efecto en la concentración de proteína, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética, para conocer la respuesta que tienen estos factores en su valor nutritivo y nutracéutico.
5. Conocer la opinión de los productores de haba de Ciudad Serdán, Puebla, sobre el consumo y uso de sus variedades de haba que cultivan, para tener evidencia empírica sobre el aporte nutritivo y/o funcional que el haba les proporciona al ser consumida

VI. LITERATURA CITADA

- ASERCA, (2001). Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria, Claridades Agropecuarias Órgano Desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2116-102. México D.F. pp.1-4
- Valdés, M. S. E. (2006). Hidratos de carbono. En S. Badui (coord.), *Química de los alimentos cuarta edición* (p.54) México: Pearson educación.
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Dave, O. B. (2010). Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*, 43, 461-482.
- Cerning, J., Saposnik, A., Guilbot A. (1975). Carbohydrate composition of horse beans (*Vicia faba*) of different origins. *Cereal Chemistry*, 52, 125-138.
- Dini, A., De Simone, F., Ramundo, E., Senatore, F. (1989). Oligosaccharides in five different *Vicia faba* L. Cultivars. *Biochemical Systematics and Ecology*, 17(7/8), 559-561.
- Duranti, M. (2006). Review Grain legumes proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.
- Duranti, M, Gius, C. (1997). Legumes seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Research*, 53, 31- 45.
- Evans, L. T. (1993). The domestication of crop plants. En L. Evans (coord.), *Crop evolution, adaptation and yield* (pp. 62-72). Great Britain: Cambridge University Press.
- FAO, Food and Agriculture Organization (2006) Informe Nacional Sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la alimentación. Recursos fitogenéticos en México para la Alimentación y la Agricultura. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Sociedad Mexicana de Fitogenética (SOMEFI), A.C. Chapingo, México. p.172
- Gangola, M. P., Khedikar, Y. P., Gaur, P. M., Baga, M., Chibbar, R. N. (2013). Genotype and Growing Environment Interaction Shows a Positive Correlation between Substrates of Raffinose Family Oligosaccharides (RFO) Biosynthesis and Their Accumulation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61 (20), 4943-4952.

- Geil P. B., Anderson, J. W. (1994). Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13, 549–558.
- Giczewska, A., Borowska, J. (2003). Nutritional value of broad bean seeds. Part 1: Starch and fiber. *Nahrung/Food*, 47(2), 95-97.
- Herrera-Cabrera, B. E., Díaz, R. R., González, C.F., Delgado-Alvarado, A. (2006) Diversidad Genética y valor agronómico de haba en la región central de México. Informe Técnico, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Colegio de Postgraduados - Campus Puebla. Puebla, México. p. 96.
- Kaufman, P. B., Duke, J. A., Briemann, H., Boik, J., Hoyt, J. E. (1997). A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *The journal of alternative and complementary medicine*.3, (1), 7-12.
- Madar, Z., Estark, A. H. (2002). New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition*, 88 (Supple. 3), s287-s292.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2005). Rafinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars. *Food Chemistry*, 91, 645-649.
- Silveira, R. M. B., Monereo, M. S., Molina, B. B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos?. *Revista Española de Salud Pública*, 77, 317-331.
- SIAP, (2014). Cierre de la producción agrícola por estado. En *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Consultada el 20 mayo de 2015. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Singh, N., Kaur, M., Sandhu, K. S., Sodhi, N. S. (2004). Physicochemical, cooking and textural characteristics of some Indian black gram (*Phaseolus mungo* L) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 977-982.
- Tahir, M., Lindeboom, N., Baga, M., Vandenberg, A. Chibbar, R. N. (2011). Composition and correlation between major seed constituents in selected lentil (*Lens culinaris*. Medik) genotypes. *Canadian Journals of Plants Science*. 91, 825-835.
- Trinidad, T. P., Millillin, A. C., Loyola, A. S., Sagum, R. S., Encabo, R. R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fiber. *British Journal of Nutrition*, 103, 569-574.

Tosh, M. T., Yada, S. (2010). Dietary fibers, in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International* 43, 450-460.

CAPITULO I. ANTECEDENTES

1. Valor nutritivo y nutracéutico

1.1 Nutrición contra prevención de enfermedades

En los últimos años ha aumentado considerablemente el interés de los consumidores por conocer la relación que existe entre dieta y salud, pues desequilibrios y desajustes alimenticios están relacionados con la aparición de enfermedades (Guía de Alimentos funcionales, 2014).

Instituciones de salud pública de diversos países se encuentran preocupadas e interesadas en que los ciudadanos tengan un mejor aporte nutricional, que se vea reflejado en su salud. Entre estas organizaciones está la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), en Japón existe la de Alimentos para Usos Específicos en la Salud (FOSHU, por sus siglas en inglés), en Estados Unidos se encuentra la Fundación para la Innovación en Medicina (FIM, por sus siglas en inglés), instituciones que han realizado investigaciones donde comprueban que algunos componentes provenientes de alimentos tienen efectos fisiológicos favorables en el ser humano (FOSHU, 2014; SENC, 2014; FIM, 2014).

En la actualidad, ya contamos con una gama de definiciones y terminologías para alimentos o componentes de alimentos, como son los prebiótico, probiótico, alimento funcional, alimento medicinal, nutracéutico (Sanders, 1998), productos naturales para la salud (Shahidi, 2005), suplementos alimenticios, alimentos enriquecidos, entre otros. Los cuales, se identifican comercialmente para que los consumidores conozcan que son productos alimenticios que tienen relación con nutrición, prevención de enfermedades y/o mejora de la salud.

1.2 Definición de alimento nutracéutico y alimento funcional

La revolución de los nutracéuticos empezó a principios de los 80s, se desencadenó gracias a estudios clínicos que confirmaron el uso de componentes de alimentos como fibra, aceite de pescado, B-caroteno, niacina, vitamina A, magnesio, antioxidantes, entre otros, podían tener beneficios en la salud previniendo o tratando ciertas enfermedades,

por lo que se denoto la palabra nutraceutico, alimentos que confirieran componentes beneficiosos al consumidor (DeFelice, 1995).

El término nutraceutico es el resultado de la fusión de nutriente y farmacéutico, fue acuñado en 1989 por Stephen DeFelice, fundador y presidente de la fundación para la Innovación en Medicina (Cranford, N J, EE.UU.), quien menciona que “un nutraceutico es cualquier sustancia, alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o de salud, incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedad” (DeFelice, 1995; Jack, 1995; Duranti, 2006).

Existen dos categorías de nutraceuticos, nutraceutico potencial y nutraceutico establecido, el primero mantiene la idea de que si el alimento o parte del alimento es consumido puede tener un particular beneficio en la salud, el segundo se maneja cuando hay suficiente evidencia clínica para demostrar su efecto potencial en la salud del ser humano (DeFelice, 1995).

El concepto de alimentos funcionales nació en Japón en los años 80s con la idea de garantizar una mejor calidad de vida y controlar los gastos sanitarios (EUFIC, 2014). Un alimento funcional es un alimento modificado o un ingrediente del alimento que proporciona beneficios a la salud, además de satisfacer los requerimientos nutricionales tradicionales, este tipo de alimentos no cura enfermedades solo promueve la salud (Sanders, 1998). Roberfroid (1996) menciona que un alimento es funcional, si este contiene un componente del alimento ya sea nutriente o no, el cual tiene un efecto o varias funciones fisiológicas específicas en el cuerpo; algunas de estas pueden ser la prevención de estrés oxidativo, la restauración o el balance de la microflora del colon, reequilibrio de las actividades metabólicas y fortalecimiento del sistema inmune. De acuerdo a la Guía de Alimentos Funcionales (2014) promovida por el Instituto Omega 3, la Conferencia de consumidores y Usuarios (CECU) y la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) mencionan que estos alimentos aparte de que aportan nutrientes, han demostrado científicamente que tienen efectos beneficiosos en funciones del organismo, al proporcionar un mejor estado de salud y bienestar, pues ejercen un papel preventivo que reducen los factores de riesgo que provocan la aparición de enfermedades.

Como se puede apreciar, ambos términos nutraceutico y alimento funcional son semejantes, sin embargo, el termino alimento funcional es mayormente utilizado para un alimento convencional, el cual proporciona al cuerpo los nutrientes necesarios como vitaminas, carbohidratos, proteínas, etc., pero cuando el alimento funcional es consumido para prevención o tratamiento de enfermedades (que no sea anemia) es llamado nutraceutico. Por lo tanto, mientras que para un consumidor puede ser utilizado como alimento funcional, para otro consumidor puede actuar como nutraceutico (Kalra, 2003).

A pesar de que ambos términos son manejados para distinguir que tienen un efecto de protección, prevención y posibles curas de enfermedades crónicas, de acuerdo a Shahidi (2005) los nutraceuticos son componentes o extractos de alimentos y productos no alimenticios tomados en forma de medicamentos como tableta, cápsula, polvo, líquido etc., mientras que los alimentos funcionales son alimentos consumidos comúnmente como parte de la dieta alimenticia que además de proporcionar nutrientes básicos también tienen beneficios en la salud del individuo.

1.3 Componentes de alimentos utilizados como nutraceuticos y/o alimentos funcionales y su relación benéfica con enfermedades

Se ha demostrado que muchos alimentos tradicionales como frutas, verduras, pescados y lácteos contienen componentes beneficiosos para nuestro organismo (Guía de alimentos funcionales, 2014). En el Cuadro 1.1 se observan ejemplos de componentes funcionales y/o nutraceuticos.

1.4 Las leguminosas como alimentos funcionales y nutricionales

Las leguminosas, se consideran alimentos ideales para cumplir con las recomendaciones dietéticas, ya que además de aportar proteínas, son una buena fuente de almidón, fibra dietética y minerales como Calcio (Ca), hierro (Fe), potasio (K), magnesio (Mg) y zinc (Zn), son bajas en sodio y no contienen colesterol (Madar y Stark, 2002).

Cuadro 1.1 Alimentos y componentes de alimentos beneficiosos para la salud.

Alimento	Componente	Beneficio potencial para la salud y/o enfermedad que puede prevenir
Alimentos marinos	Ácidos grasos insaturados, principalmente omega-3	Baja los niveles de triglicéridos y posible colesterol, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y mejoran la visión
Productos lácteos fermentados, principalmente yogurt.	Prebióticos, principalmente Microorganismos, lactobacilos y bifidobacterias	Proporcionan beneficios en el tracto gastrointestinal ya que equilibra la flora
Frutas y verduras	Flavonoides	Neutralizan los radicales libres oxidantes
Soya	Isoflavonas	Baja incidencia de enfermedades cardiovasculares, de ciertos tipos de cáncer, de fracturas óseas y de síntomas menopáusicos
Jitomate	Licopeno	Reduce el riesgo de cáncer en próstata e infarto del miocardio
Brócoli	Sulforatano	Reduce el riesgo de cáncer
Leche alta en calcio, con bajo aporte de grasa	Calcio	Reduce el riesgo de osteoporosis
Pescado	Ácidos grasos omega-3	Reduce el riesgo de enfermedades del corazón.
Zanahoria	Carotenoides	Reduce el riesgo de cáncer
Ajo	Componentes organosulfurados	Reduce el riesgo de cáncer
Vino en cantidad moderada	flavonoides	Contribuyen a la salud cardiovascular
Cereales con agregado de ácido fólico	Ácido fólico	El ácido fólico ayuda a reducir el número de casos de bebés que nacen con espina bífida
Té	Polifenoles y catequinas	Reduce el riesgo de enfermedades coronarias y algunos cánceres
Ajo	Componente organosulfurados	Reduce el riesgo de cáncer

Fuente: INTA (2007); IFIC (2014).

Organizaciones de salud promueven la ingesta de alimentos a base de plantas, por lo que las leguminosas deben ser consumidas como parte de los alimentos básicos diarios, ya que son nutritivas y proporcionan muchos de los ingredientes que ayudan a mejorar la salud (Leterme, 2002). Geil y Anderson (2013), mencionan que el consumo de

leguminosas como frijol, chicharos y lentejas han sido consideradas alimentos funcionales desde hace largo tiempo.

Investigaciones realizadas en leguminosas comprueban su eficacia como alimentos nutracéuticos y/o funcionales. Trinidad *et al.* (2010), mencionan en su estudio que los chicharos, garbanzos, soya, frijol mungo, haba, etc., poseen bajos índices glucémicos (IG < 55), disponibilidad de minerales (Fe, Zn, Ca, ácido fólico y ácido tánico) y algunas de las semillas mostraron tener efectos hipocolesterolemiantes, de esta manera, llegaron a la conclusión de considerar a las leguminosas como alimentos funcionales, y con ingredientes para suplementar otros productos alimenticios. Tosh y Yada (2010) indican que las semillas de leguminosas son una fuente de alimentos ricos en fibra dietética y oligosacáridos, los cuales promueven varios beneficios fisiológicos en la salud humana. Duranti (2006) señala que el consumo frecuente de leguminosas puede ayudar a reducir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades del tracto digestivo, el sobrepeso y la obesidad. Madar y Stark (2002), realizaron investigación en leguminosas poco consumidas como haba (*Vicia faba*), frijol mungo (*Phaseolus aureus*, *Vigna radiatus*) y alholva (*Trigonella foenum graecum*), y muestran precedente de nuevos componentes que pueden ser fuente potencial para prevenir enfermedades y actuar como agentes terapéuticos.

2. Haba (*Vicia faba* L.)

2.1 Leguminosas

Evidencias arqueológicas demuestran que el cultivo de leguminosas parece haber comenzado su desarrollo en la historia de la agricultura del viejo mundo, en el periodo Neolítico acompañadas de los principales cereales encontrados en Asia y Europa (trigo y cebada) (Zohary y Hopf, 2000). Esto indica el gran valor que tienen los cereales y las leguminosas; desde la antigüedad estos cultivos han provisto al ser humano de alimento.

Las leguminosas (Leguminosae o Fabaceae) pertenecen a una de las cinco familias de plantas más abundantes del planeta (Regalado, 2014) y son la familia de plantas con flores más diversas después de las orquídeas (Orchidaceae) y las compuestas (Asteraceae o Compositae) (Lewis *et al.*, 2005). La familia Fabaceae, se caracteriza por ser de distribución cosmopolita, ya que se pueden desarrollar en diversos tipos de clima

o ecosistemas, especialmente en las tierras bajas y medias de todo el mundo (Lewis *et al.*, 2005). Se pueden encontrar como hierbas diminutas y efímeras, arbustos, árboles y trepadoras (CONABIO, 2013a).

El nombre “leguminosa” proviene del fruto, una legumbre con forma de vaina simple, alargada, comprimida y seca (Lewis *et al.*, 2005). También son denominadas leguminosas de grano a aquellas especies cuya principal utilidad se encuentra en la semilla, y es utilizada generalmente como grano, legumbre, forraje, ensilado, henificado, abono verde, para la extracción de aceite, como harinas, entre otros (Cubero *et al.*, 2004).

Las leguminosas son atractivas principalmente por dos cosas; la primera, fija nitrógeno atmosférico en el suelo a través de simbiosis con la bacteria *rhizobium* encontrada en las raíces de la planta, por lo que la siembra de cereales con leguminosas, comúnmente utilizada en la agricultura “intercalado o rotación de cultivos”, es conveniente para mantener altos niveles de fertilidad en el suelo (Zohary y Hopf, 2000). Y la segunda, por ser ricas en proteínas que ayuda a mantener una dieta balanceada en el humano. Sobre todo en muchas comunidades tradicionales dedicadas a la agricultura, pues estos granos se convierten en el principal sustituto de carne (Zohary y Hopf, 2000).

2.2 La leguminosa haba

El haba, en comparación con otras especies como el frijol, tiene la particularidad de ser más rica en proteína (ASERCA, 2001). Se considera un cultivo de clima templado, lo que le permite tener una amplia distribución en el mundo (Pérez y González, 2003). Se consume de distintas maneras, pues se suele utilizar el grano tanto en estado verde o como grano seco (Pérez y González, 2003), proporcionándole al consumidor variedad de sabores y texturas.

El cultivo se puede aprovechar de forma integral, comenzando por que al incorporarse al suelo se convierte en abono verde y aporta materia orgánica, fertiliza la tierra en donde se sembró por fijar nitrógeno, tanto el grano verde como el seco se consumen en diversos platillos, según la región donde se cultiva. El grano seco se procesa para la obtención de harina de haba útil en la cocina tradicional y en la industria de los alimentos, el grano seco se comercializa tostado y frito además las vainas y testas sirven para alimentación animal (ICAMEX, 2007).

2.3 El origen de *Vicia faba* L.

El haba, al igual que con las lentejas, chicharos, garbanzos y frijoles, son las principales semillas de la agricultura del viejo mundo (Zohary y Hopf, 2000).

Se cree que el centro de origen del haba es el Cercano Este Asiático y que ha sido cultivada desde inicios del periodo Neolítico (Cubero, 1974). De acuerdo a Cubero (1974) la expansión y evolución del cultivo se dio por migraciones naturales, después, el humano aceleró el proceso de diferenciación morfológica. Él propone que la especie se dispersó siguiendo cinco rutas diferentes las cuales se encuentran alrededor del mar mediterráneo. En México se piensa que llegó, tras el descubrimiento de América, ya que en ese periodo (siglo XV) el cultivo fue introducido (Nadal, 2004), y por su adaptación en el ambiente Mexicano se ha generado en el país un centro secundario de diversidad genética (FAO, 2006).

2.4 Organización Taxonómica del haba

De acuerdo al Sistema Integrado de Información, el haba comprende la siguiente taxonomía (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2 Taxonomía del haba

Reino	Plantae - vegetal
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta
Superdivisión	Embryophyta
División	Tracheophyta
Subdivisión	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Superorden	Rosanae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Género	<i>Vicia</i>
Especie	<i>Vicia faba</i> L.

Fuente: ITIS (2015).

2.5 Variedades de haba que se cultivan en México

Cubero (1974) da a conocer que *Vicia faba* L. se considera una especie dividida en cuatro variedades botánicas: paucijuga, una forma primitiva; mayor, de semilla grande; equina, con semilla de tamaño intermedio; y minor, con semilla de tamaño pequeño, las cuales se distribuyeron entre el continente Europeo y Asiático.

Las variedades de *Vicia faba* L. se pueden caracterizar principalmente porque tienen tamaños de semilla y estructura de la planta diferente (Cuadro 1.3).

Cuadro 1.3 Características de diferentes variedades botánicas de *Vicia faba* L.

Variedad de haba	Características particulares
<i>Vicia faba paucijuga</i>	Es considerada como el ancestro tiene tallos cortos, hojas y semillas pequeñas (peso de 1000 semillas es menor de 250g), y reproducción autogámica.
<i>Vicia faba major</i>	Produce semillas grandes (peso de 1000 semillas es mayor a 1 kg). Esta variedad se desarrolló en el Mediterráneo Sur y en China. Durante la conquista se extendió su cultivo desde México hasta Sudamérica.
<i>Vicia faba minor</i>	Es característica por producir semillas pequeñas (peso de 1000 semillas menor de 500g), se cultiva en el área de Etiopía y en el norte de Europa.
<i>Vicia faba equina</i>	Presenta semillas de tamaño medio y se desarrolla principalmente en el norte de África y Egipto

Fuente: Información tomada de Duc (1997).

México al no contar con variedades mejoradas, la siembra se realiza con variedades criollas, que pueden variar en el rendimiento, tamaño y color de grano (ASERCA, 2001). Herrera-Cabrera *et al.* (2011) mencionan que en los Valles Altos de México destaca la diversidad morfológica de *Vicia faba* L. la cual ha sido generada por los productores de la región. En su estudio demuestran que las variedades van a depender del tipo de suelo y de la altitud, la cual, se encuentra representada por: Criolla Amarilla, Tarragona, Parraleña y Cochinera o Mestiza (2700 a 3400 msnm), Blanca (2500 a 2700 msnm) y Morada (2200 a 2500 msnm). Las habas criollas de México se enmarcan en la subdivisión botánica *Vicia*

fabamajor cultivar “asiático” de vaina corta, gruesa y granos grandes y pocos (Herrera-Cabrera *et al.*, 2006).

3. El cultivo de haba

3.1 Estados productores de haba en México

A pesar de que el haba no es una especie originaria de América, el cultivo se ha extendido en gran parte de México. En la actualidad, la producción de *Vicia faba* L. se lleva a cabo en 17 entidades (ASERACA, 2001; SIAP, 2014). Sin embargo, el cultivo se caracteriza por desarrollarse en la región denominada “Valles Altos” de la mesa central (ASERCA, 2001; ICAMEX, 2009), situada predominantemente en los estados de Puebla, México, Tlaxcala, Veracruz, Michoacán, Oaxaca y Chiapas, siendo en los tres primeros donde se concentran las principales zonas de cultivo (ASERCA, 2001).

3.2 Producción de *Vicia faba* L. de los principales estados productores

Con ayuda del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2014a), se obtuvieron datos de producción agrícola de haba verde y haba de grano del 2013, bajo la modalidad de riego y temporal. El estado de México destaca en superficie sembrada (5,606.40 ha), superficie cosechada (5,325.90 ha) y producción (32,463.73 ton) de haba verde, seguido de Puebla y Tlaxcala (Cuadro 1.4). Para el caso de haba de grano (seca) el estado de Puebla destaca en superficie sembrada (17,282.91 ha), superficie cosechada (15,268.00nha) y producción (16,006.29 ton), seguido de Veracruz y Tlaxcala (Cuadro 1.5).

De acuerdo con los datos de ambos cuadros, se puede apreciar que los estados de México, Puebla y Tlaxcala son los de mayor producción de haba (verde + grano) a nivel nacional.

3.3 Principales municipios productores del estado de Puebla

En el estado de Puebla la principal región que cultiva el haba se ubica en la zona oriente, destaca de manera importante los Llanos de Serdán (Herrera-Cabrera *et al.*, 2011). De acuerdo con el SIAP (2014) los 4 principales municipios productores de haba verde y haba de grano (seco) en la modalidad de riego más temporal en el año 2013, se pueden apreciar en los siguientes Cuadros 1.6 y 1.7.

Cuadro 1.4 Producción agrícola, haba verde (riego más temporal) 2013.

Ubicación	Sup. sembrada (ha)	Sup. cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)	PMR (\$/ton)	Valor producción (Miles de Pesos)
Baja California Distrito Federal	45	43	566	13.16	8,427.40	4,769.91
Durango	9.25	9.25	47.25	5.11	5,177.78	244.65
Guanajuato	1	1	2.5	2.5	4,800.00	12
Hidalgo	111.8	111.8	610.48	5.46	2,916.69	1,780.58
Jalisco	2	2	3	1.5	4,216.75	12.65
Michoacán	916	884	4,939.30	5.59	3,679.42	18,173.77
Morelos	59	59	396.3	6.72	5,370.28	2,128.24
México	5,606.40	5,325.90	32,463.73	6.1	5,723.95	185,820.89
Puebla	5,411.25	2,353.00	15,263.49	6.49	2,790.44	42,591.89
Sonora	12	12	9.72	0.81	9,900.00	96.23
Tlaxcala	1,484.00	1,484.00	5,724.40	3.86	4,058.90	23,234.76
Veracruz	214	214	240.08	1.12	3,814.09	915.69
	14,061.70	10,684.95	61,004.11	5.71	4,684.59	285,779.17

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2014).

Cuadro 1.5 Producción agrícola, haba de grano (riego más temporal) 2013.

Ubicación	Sup. sembrada (ha)	Sup. cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)	PMR (\$/ton)	Valor producción (Miles de Pesos)
Guanajuato	22	22	17.6	0.8	9,427.84	165.93
Guerrero	4	4	8	2	15,000.00	120
Hidalgo	406	406	683	1.68	5,930.45	4,050.50
Michoacán	117	117	149.15	1.27	5,179.65	772.54
Morelos	81	81	283.2	3.5	10,477.88	2,967.34
México	312	312	658.34	2.11	14,636.69	9,635.92
Oaxaca	36.5	36.5	40.01	1.1	5,693.65	227.8
Puebla	17,282.91	15,268.00	16,006.29	1.05	16,312.89	261,108.79
Sonora	20	20	50.62	2.53	3,656.46	185.09
Tlaxcala	3,972.00	3,972.00	7,261.15	1.83	10,564.32	76,709.12
Veracruz	5,719.00	4,801.00	8,221.80	1.71	13,156.15	108,167.20
Zacatecas	9	9	10.8	1.2	6,500.00	70.2
	27,981.41	25,048.50	33,389.96	1.33	13,901.80	464,180.43

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2014).

Cuadro 1.6 Principales municipios productores de haba verde en Puebla.

Municipio	Superficie Sembrada (ha)	Producción (ton)
Chalchicomula de Sesma (Cd. Serdán)	1, 037.00	4,048.30
Palmar de Bravo	580.00	1,890.00
Atzitzintla	750.00	3,090.00
Esperanza	380.00	1,501.00

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2014).

Cuadro 1.7 Principales municipios productores de haba de grano en Puebla.

Municipio	Superficie Sembrada (ha)	Producción (ton)
Chalchicomula de Sesma (Cd. Serdán)	300.00	365.50
Atzitzintla	1,850.00	2,041.00
Palmar de Bravo	1,100.00	1,208.00
Libres	1,015.00	790.50

Fuente: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SIAP (2014).

Al considerar el haba para grano y el haba verde, los municipios de mayor producción son Chalchicomula de Sesma, seguida de Atzitzintla y Palmar de Bravo.

4. Componentes nutritivos y funcionales encontrados en las leguminosas

4.1 Oligosacáridos

4.1.1 Los oligosacáridos

Estos carbohidratos se caracterizan por ser de bajo peso molecular y ser solubles en agua (Mussatto y Mancilha, 2007), son el producto de la condensación de entre tres y 10 monosacáridos unidos mediante un enlace glucosídico (Valdés, 2006). Entre ellos existen oligosacáridos que son digeridos y otros que no son digeridos por el organismo del ser humano (Valdés, 2006).

Los oligosacáridos no digeribles (OND) están compuestos por unidades de monosacáridos como fructosa, galactosa, glucosa y xilosa, algunos de estos OND son cyclodextrinas, fructooligosacaridos, galactooligosacaridos, oligosacáridos de rafinosa (Mussatto y Mancilha, 2007). Estos compuestos presentan importantes propiedades fisicoquímicas, sin embargo mucho del interés de su uso como ingredientes en alimentos es debido a sus propiedades fisiológicas beneficiosas para la salud como significativa

modificación en la microflora, descenso de pH en el colon, incremento en la excreción fecal, evitar estreñimiento, efecto protector contra infecciones gastrointestinales, respiratorias y urogenital, reducción de contraer cáncer, entre otras (Mussatto y Mancilha, 2007).

4.1.2 Aplicación de los oligosacáridos en productos alimenticios

El mercado de los oligosacáridos es básico y continuamente se está expandiendo, industrias Japonesas dominan la producción de oligosacáridos en el mundo desarrollando investigación y aplicación, sin embargo, Europa también ha tenido interés en esos componentes por lo que varias compañías producen oligosacáridos o planean producir alimentos que los contengan (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008). El uso particularmente atractivo como ingrediente para la elaboración de alimentos, es debido a que son componentes funcionales, que proporcionan gran manufactura y tienen beneficios en la salud (Crittenden y Playne, 1996).

Los oligosacáridos son ingredientes funcionales para los alimentos, tienen un potencial para mejorar su calidad porque pueden modificar el sabor y algunas características fisiológicas, además de proporcionar beneficios para la salud de quien los consume, ya que son azúcares de bajo carcinogénesis, tienen bajo valor calórico y estimulan el crecimiento de bacterias benéficas en el colon (Crittenden y Playne, 1996).

Los oligosacáridos son ligeramente dulces, típicamente de 0.3 - 0.6 veces más dulces que la sacarosa, esto va a depender de su estructura química y masa molecular de los oligosacáridos presentes y del nivel de mono y disacáridos en la mezcla (Crittenden y Playne, 1996). Su relativo bajo dulzor es usual en producción de alimentos, ya que tienen una potencial aplicación como ingredientes, pues pueden llegar a enmascarar los regustos producidos por algunos edulcorantes agregados en productos alimenticios como aspartame y sucralosa (Crittenden y Playne, 1996; Mussatto y Mancilha, 2007; Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008).

Los oligosacáridos de mayor peso molecular proporcionan una mayor viscosidad, lo que da un mejor cuerpo al alimento y una mejor sensación en la boca, pueden también ser utilizados para alterar la temperatura de congelación de los alimentos congelados y para controlar el pardeamiento producido por las reacciones de Maillard en alimentos procesados por calor (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008). Los oligosacáridos tienen un uso

versátil, pues pueden utilizarse como sustitutos de azúcar en confitería, chicles, yogures y bebidas, y como no son digeridos por los seres humanos, son adecuados para ser utilizados en alimentos de bajo valor calórico (alimentos dietéticos) y para el consumo de personas con diabetes (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008). También tienen aplicación en repostería para jaleas, cremas heladas, mermeladas, productos de panadería (galletas, panes, pasteles) y en leche elaborada para lactantes (Crittenden y Playne, 1996; Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008).

4.1.3 Oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR)

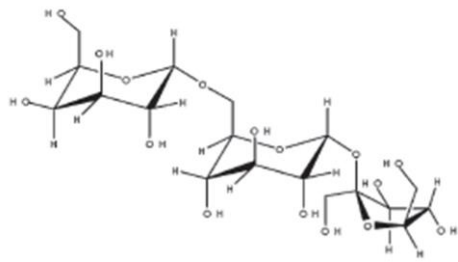
Un importante grupo de los oligosacáridos son los α -galacto-oligosacáridos mejor conocidos como oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR) (Tahir *et al.*, 2011), o también denominados α -galactosidos (Tajoddin *et al.*, 2012).

Los OFR pertenecientes al grupo de los OND, comparten las mismas características, son de bajo peso molecular, no reductores de azúcar, solubles en agua y son ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Tajoddin *et al.*, 2012). De acuerdo a su estructura (longitud de su cadena), formada por unidades de galactosa, de manera ascendente se encuentra primero rafinosa, seguido de estaquiosa, verbascosa, ajugosa y oligosacáridos de cadena más larga. Estos azúcares se encuentran principalmente como componentes de las leguminosas (soya, garbanzos, frijoles, chícharos, alubias, etcétera) y son comúnmente conocidos por ser productores de gases intestinales en el ser humano; es decir, su consumo causa flatulencia (Valdés, 2006).

Martínez-Villaluenga y otros (2008), mencionan la estructura de los α -galactosidos de acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) se muestra en la Figura 1.1.

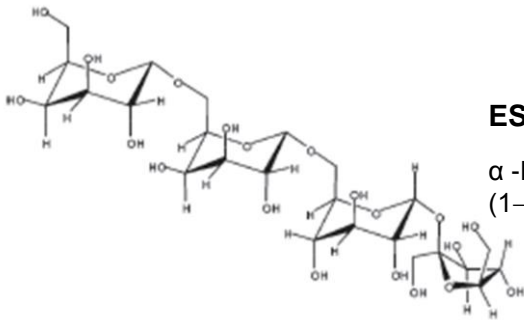
4.1.4 OFR en las leguminosas

Los OFR más conocidos son rafinosa, estaquiosa, verbascosa y ajugosa (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008), sin embargo, los de mayor interés en investigaciones relacionadas con leguminosas incluyen solo los tres primeros (Tahir *et al.*, 2011).



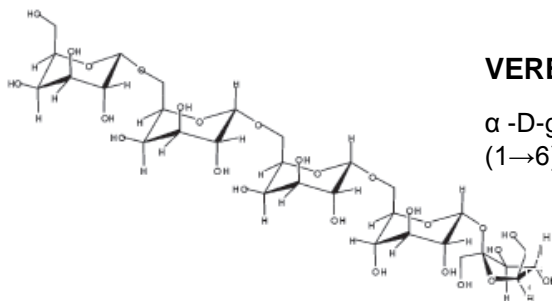
RAFINOSA

α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosido



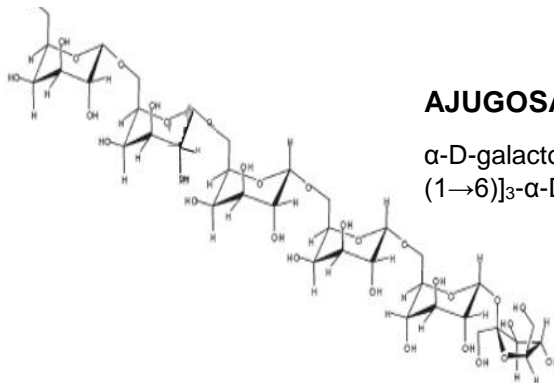
ESTAQUIOSA

α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosido



VERBASCOSA

α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)-[α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)]₂- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosido



AJUGOSA

α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)-[α -D-galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)]₃- α -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-fructofuranosido

Figura 1.1 Estructura química de los principales α - oligosacáridos presentes en las leguminosas.

Estos α -galactosidos son los más abundantes y estudiados en semillas de leguminosas ampliamente consumidas en el mundo, como lentejas (Tahir *et al.*, 2011),

haba (Dini *et al.*, 1989; Goyoaga *et al.*, 2011), garbanzos (Gangola *et al.*, 2013), y lupinos (Muzquiz *et al.*, 1992).

Frias *et al.* (1996), demostraron la evolución de los carbohidratos solubles durante el desarrollo del chícharo (*Pisum sativum* L), haba (*Vicia faba* ssp. minor) y lupinos (*Lupinus luteus* L.), encontrando que mioinositol, fructosa, glucosa, galactosa y sacarosa se hallaron en abundancia en su desarrollo temprano y estos contenidos disminuyeron gradualmente durante la maduración. Los OFR empezaron aparecer días después de la floración, sin embargo, se incrementó su acumulación durante el desarrollo de la semilla y el máximo contenido se obtuvo en las semillas maduras. Martínez-Villaluenga (2005) también menciona que los oligosacáridos se acumulan durante el desarrollo de la semilla, y los OFR se forman durante la maduración de la misma, su función es de reserva de carbono para ser usado durante la germinación. Muzquiz *et al.* (1992) encontraron que hay una reducción de los OFR durante el periodo de germinación de la semilla de lupinos. Por lo que se argumenta que estos azúcares si son utilizados para el desarrollo de la plántula.

Este incremento de α -oligosacáridos en la fase final del desarrollo de las semillas se encuentra asociado con la tolerancia a la desecación; al unirse con la sacarosa, estos α -oligosacáridos evitan su cristalización durante la deshidratación celular, permitiendo que el citoplasma retenga, en la semilla madura y seca, un estado cristalino estable (Herrera *et al.*, 2006).

El contenido de α -galactosidos en las leguminosas va a depender de la variedad y del genotipo (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2005), de las condiciones ambientales (Gangola *et al.*, 2013), y de la maduración de la semilla (Tahir *et al.*, 2011). Estos factores determinan la síntesis de estos compuestos, los cuales juegan un papel importante en la variabilidad de los contenidos.

En un estudio realizado con tres especies de leguminosas, el total de α -galactosidos que se encontró fue 3.8 % en chícharo, 4.5 % en haba y 10.4 % en lupinos, esta última especie tuvo una mayor actividad bioquímica en acumular estos azúcares solubles (Frias *et al.*, 1996).

Trece cultivares de lupinos (*Lupinus albus*, *Lupinus luteus* and *Lupinus angustifolius*) fueron analizados para seleccionar el mejor respecto a altos contenidos de α -galactosidos, y entre una amplia variación de estos compuestos en las especies, encontraron que las semillas de *L. luteus* es la mejor opción para obtener RFOs en forma pura y poder aplicarlos como ingrediente en alimentos funcionales (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2005). Además Mussatto y Mancilha (2007), mencionan que una ventaja de los OFR es que pueden ser extraídos directamente de las leguminosas, sin necesidad de procesos enzimáticos previos.

4.1.5 OFR contenidos en el haba

De acuerdo a Cerning *et al.* (1975), al evaluar 16 variedades de *Vicia faba* provenientes de diferentes áreas geográficas (Europa, norte de África y Asia), reportaron que el contenido de azúcares totales oscilaba entre 51 y 66 %, y argumentan que los α -galactosidos se localizan principalmente en el cotiledón, ya que en la testa predominaron los polisacáridos que son azúcares estructurales, sin embargo, el estudio menciona que no es posible asegurar que la variación de los contenidos de los carbohidratos sea debido a la variedad o a factores climáticos. Por lo que se requiere mayor investigación para determinar los diferentes factores que pueden ser responsables en el contenido de sus carbohidratos.

Frias *et al.* (1996) evaluaron el contenido de azúcares solubles en diferentes días después de floración (DDF), en algunas leguminosas, entre ellas el haba. En el desarrollo temprano de la semilla de *Vicia faba* encontraron cantidades abundantes de mioinositol, fructosa, glucosa, galactosa y sacarosa, esos contenidos fueron decreciendo durante la maduración y se empezaron a observar los OFR, y en el día 33 DDF encontraron rafinosa y estaquiosa, y hasta el día 40 DDF hubo presencia de verbascosa. Sin embargo, al final del estudio, verbascosa fue el α -galactosido más predominante en haba (Frias *et al.*, 1996).

Estudios realizados en semilla de haba (cruda) mencionan que 10 % está comprendido por monosacáridos (fructosa, glucosa y galactosa), 35 % por disacáridos (sacarosa y melibiosa) y 50 % por oligosacáridos de la familia de las rafinosas (rafinosa, verbascosa, estaquiosa y ajugosa) (Goyoaga *et al.*, 2011). El haba en base seca (*Vicia*

faba L. major), tiene valores de rafinosa de 0.28 g 100 g⁻¹, estaquiosa 1.10 g 100 g⁻¹, y verbascosa 2.29 g 100 g⁻¹, dando un total 3.67 g 100 g⁻¹ de contenido de α -galactosidos (Vidal-Valverde *et al.*, 1998). Dini *et al.* (1989) mencionan que los OFR varían entre cultivares de *Vicia faba*, sin embargo, a pesar de esas diferencias estos se encuentran en la misma proporción en la leguminosa destacando la verbascosa, seguido de la estaquiosa y en menor proporción la rafinosa.

Goyoaga *et al.* (2011) evaluaron oligosacáridos de semilla de haba germinada y sin germinar, y destacan que hay una reducción hasta casi llegar a la eliminación de algunos de estos OFRs (verbascosa y ajugosa) cuando la semilla germina.

4.1.6 Estructura y biosíntesis de los OFR

La sacarosa es el azúcar que se forma como principal producto de la fotosíntesis en plantas superiores, se puede trasladar de las hojas a otros órganos y es el carbohidrato primordial almacenado para proporcionar D-glucosa y D-fructosa (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2008), los cuales son esenciales para la síntesis posterior de los oligosacáridos. Estos OFR están constituidos por unidades de galactosa (Gal) (Peterbauer *et al.*, 2001), se conocen por tener cadenas lineales de residuos de galactosil unido al resto de la glucosa (que proviene de la sacarosa) a través del enlace α -(1 \rightarrow 6) glicosídico (Tahir *et al.*, 2011). La enzima que comienza el camino de la ruta biosintética de los OFR es la galactinol sintasa (Lowell y Kuo, 1989, Nishizawa *et al.*, 2008). En la Figura 1.2 se aprecia como la sacarosa es el aceptador del resto galactosil de galactinol, sintetizando a la rafinosa con la liberación de mioinositol, reacción catalizada por la galactosiltransferasa sintasa de la rafinosa (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2008).

El trisacárido rafinosa es el primer miembro de la serie de los OFR, el cual se compone de un monómero de Gal unida a la molécula de sacarosa a través del enlace α -1-6 glicosídico; la estaquiosa (tetrasacárido) y la verbascosa (pentasacárido) se sintetizan a partir de la rafinosa mediante la adición de unidades de galactosil (Tahir *et al.*, 2011).

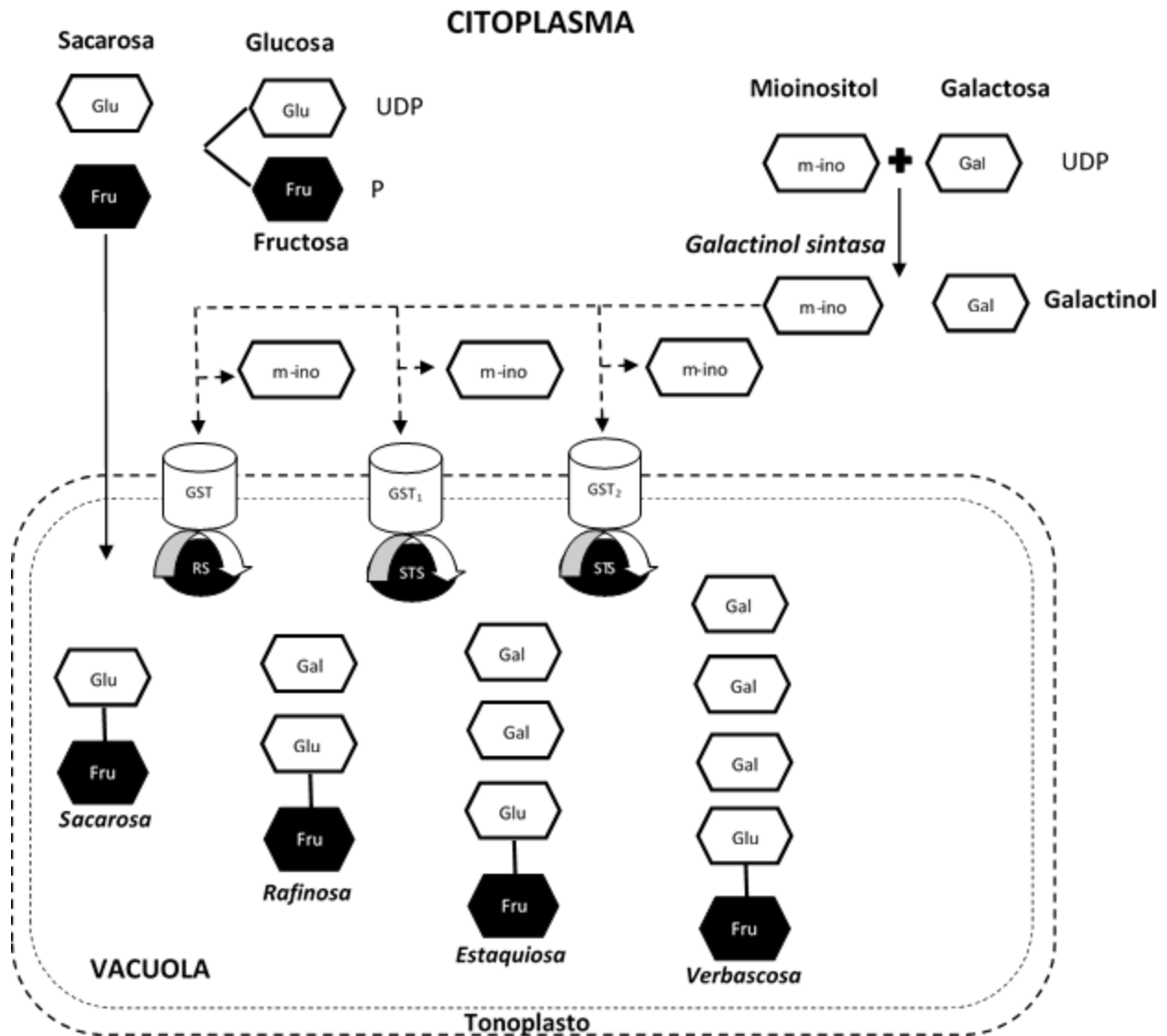


Figura 1.2 Biosíntesis de α -Galactosidos. GST: galactosil transferasa; RS: rafinosa sintasa; STS: estaquiosa sintasa (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008).

4.1.7 Los OFR como factores anti-nutricionales

Altas concentraciones de α -galactosidos presentes en los alimentos son considerados antinutricionales, tienen efectos negativos como: flatulencia, reducción de la energía neta dietética, e interferencia en la absorción de nutrientes en el intestino (Martínez-Villanueva *et al.*, 2008). También el consumo de alimentos con altas cantidades de OFR (OFR > 3 g

d⁻¹) podría causar dolores abdominales, diarrea y molestias dependiendo de la sensibilidad de cada individuo (Tahir *et al.*, 2011).

La flatulencia es originada debido a que el tracto no sintetiza la α -galactosidasa, enzima que hidroliza a los oligosacáridos (Geil y Anderson, 2013). Los humanos y los animales monogástricos carecen de esta enzima por lo que los OFRs pasan a través del estómago sin ser digeridos (no son hidrolizados durante el metabolismo normal de los alimentos), llegan al íleon y al colon para ser fermentados en el intestino delgado por la flora intestinal normal y los descomponen en sus correspondientes monosacáridos, ahí se lleva a cabo una fermentación anaeróbica, donde el microorganismo responsable es *Clostridium perfringens* y otros microorganismos anaeróbicos que habitan en el intestino, dando como resultado dióxido de carbono, metano, hidrogeno y ácidos grasos de cadena corta (Valdés, 2006; Tahir *et al.*, 2011). Es deseable disminuir el contenido de oligosacáridos en leguminosas (Muzquiz *et al.*, 1992), para evitar la producción de gases y malestares estomacales por el consumo de estos compuestos.

De acuerdo al estudio realizado por Glencross *et al.* (2002) se demuestra que lupino como alimento para la trucha arcoíris, tienen compuestos antinutricionales como los oligosacáridos, estos reducen la digestibilidad de la proteína y por lo tanto el valor nutricional que tienen. Sin embargo, en su evaluación, consideraron diferentes tratamientos para disminuir el contenido de estos azúcares, como remojar la harina de lupino en etanol ayudo a aumentar el valor nutricional, o también el uso exógeno de la enzima α -galactosidasa mejoró notablemente la digestibilidad de la proteína, así como otros parámetros nutritivos evaluados en el estudio, de tal forma que la aplicación de estas técnicas para leguminosas podría beneficiar el valor nutrimental cuando sea utilizado como alimento para animales.

A pesar de que oligosacáridos se han considerado factores antinutricionales, en muchos estudios se ha reconsiderado el impacto beneficioso que pueden tener en la salud por lo que actualmente se consideran componentes bioactivos (Alonso *et al.*, 2010).

4.1.8 Los OFR y su función prebiótica

Aunque estos carbohidratos no son tan favorables en el organismo, se han encontrado causas positivas cuando se ingieren en bajas concentraciones ya que algunos oligosacáridos tienen un efecto prebiótico, siendo el sustrato trófico del probiótico, los cuales, no son digeribles por el hombre, pero benefician al huésped estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o actividad de bifidobacterias y lactobacilos, influyendo positivamente en las células intestinales y el sistema inmune (Roberfroid, 1998; Swennen *et al.*, 2006; Mussatto y Mancilha 2007). Los OFRs promueven el crecimiento de microorganismos en la flora intestinal, de ahí el interés en usar prebióticos de oligosacáridos como ingredientes para alimentos funcionales (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2005).

Con base en lo anterior, un bajo contenido de OFRs en las leguminosas es lo que se necesita para una mayor aceptabilidad de los consumidores (Tahir, *et al.*, 2011), y así, a su vez adquirir los beneficios que estos carbohidratos proporcionan a la flora intestinal. Martínez-Villaluenga *et al.* (2008) mencionan que el efecto de los α -galactosidos como factores antinutricionales o como componentes benéficos depende de la dosis de su consumo, por lo que sugieren que la dosis adecuada para obtener beneficios en la salud es de 3 g día⁻¹.

Debido a que estos azúcares son hidrosolubles, se pueden eliminar parcialmente de los granos y las semillas que los contienen (Váldés, 2006), por lo que tratamientos simples y algunos económicos pueden disminuir estos componentes antinutricionales. Pueden ser removidos usando métodos básicos en casa como el remojo de la semilla y la cocción (Geil y Anderson, 2013). También tienen una efectiva reducción con el proceso natural de la germinación, el remojo de las semillas en diversas soluciones, remojo más cocción, calentamiento en seco (Vidal-Valverde *et al.*, 1998), remojo con ultrasonido, remojo con presión hidrostática (Han y Baik, 2006) entre otros. Sin embargo, la utilización de estos tratamientos mecánicos y químicos puede reducir la calidad nutricional de las semillas, por lo que se requiere de estrategias de mejora genética para reducir estos compuestos (Gangola *et al.*, 2013).

4.2 Fibra dietética

4.2.1 Componentes y definición de fibra dietética

Se le denomina fibra a los componentes estructurales de las paredes celulares de los vegetales (Valdés, 2006), esta se encuentra constituida por celulosa, hemicelulosas, oligosacáridos, gomas y las pectinas (Tosh y Yada, 2010; Hollmann *et al.*, 2013), además contiene otros componentes que no son carbohidratos como la lignina (que es una cadena de compuestos fenólicos) (Valdés, 2006) y ceras (ésteres de ácidos grasos con pesos moleculares elevados) (Rodríguez *et al.*, 2006; Tosh y Yada, 2010). A pesar de que son tan diversos todos estos compuestos comparten una misma característica, no son digeribles por el tracto digestivo del humano (Valdés, 2006; Rodríguez *et al.*, 2006; Tosh y Yada, 2010). En el Cuadro 1.8 se observa una gama más amplia de componentes que se incluyen en el concepto de fibra (Gil y Sánchez de Medina, 2010).

Para muchos autores, a la denominada fibra la reconocen más por “fibra dietética” (Rodríguez *et al.*, 2006; Tosh y Yada, 2010; Hollmann *et al.*, 2013) y debido a que existen diversos compuestos que integran la fibra dietética (FD) que a su vez tienen ciertas diferencias, es difícil tener un significado concreto. De acuerdo a Tunland y Meyer (2002) señalan que hay varias definiciones, algunas de ellas se basan en ciertos métodos específicos, sin embargo, la definición más aceptable es la propuesta por American Association of Cereal Chemists (U.K.) (AACC). De acuerdo con la AACC (2000), la FD se considera a “las partes comestibles de plantas o carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado con completa o parcial fermentación en el intestino largo. Esta incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas en plantas. La FD promueve efectos fisiológicos benéficos incluyendo laxación, y/o atenuación del colesterol en la sangre, y/o atenuación de glucosa en la sangre”.

En dietas basadas en alimentos naturales se puede encontrar fuentes altas de fibra, algunos de estos alimentos incluyen a las frutas, vegetales, productos de grano, leguminosas, nueces y concentrados de fuentes de plantas como salvado de trigo y avena (Burton, 2000).

Cuadro 1.8 Principales constituyentes de la Fibra Dietética.

Polisacáridos	Análogos de hidratos de carbono	Oligosacáridos	Derivados no hidratos de carbono
<ul style="list-style-type: none"> •celulosa •Hemicelulosa •Pectinas •Gomas •Mucilagos •Polifruktosas 	<ul style="list-style-type: none"> •Dextrinas no digeribles •Maltodextrinas resistentes •Polidextrosa •Metilcelulosa •Hidroxipropilmetilcelulosa •Almidón resistente •Hidratos de carbono sintéticos 	<ul style="list-style-type: none"> •Inulina •Fructooligosacáridos •Galactooligosacáridos 	<ul style="list-style-type: none"> •Lignina •Ceras •Fitatos •Cuinas y suberinas •Compuestos polifenólicos (taninos)

Fuente: Adaptado de Gil y Sánchez de Medina (2010).

4.2.2 Fibra dietética en la dieta

En la actualidad las dietas se basan en productos de origen animal y procesados donde escasean alimentos naturales, este cambio de hábitos alimenticios ha provocado el inicio de una serie de enfermedades que son ocasionadas principalmente por la falta de nutrientes y fibra y un consumo excesivo de grasas y azúcares. Lo preocupante de estas enfermedades es que no solo se presentan en adultos mayores sino en jóvenes y niños (Gil y Sánchez de Medina, 2010).

Estudios han demostrado que la FD proporciona ciertos beneficios fisiológicos para quienes la consuman (Tosh y Yada, 2010). Una carencia de FD puede influir en contraer enfermedades graves como obesidad, diabetes, hipercolesterolemia y enfermedades del aparato digestivo (estreñimiento y diverticulosis) (Gil y Sánchez de Medina, 2010). En los últimos años el aumento del consumo de FD ha adquirido importancia, y por los beneficios fisiológicos que aporta al consumidor, es considerada como un ingrediente funcional (Rodríguez *et al.*, 2006), por lo que agregarle fibra a productos alimenticios que no la contienen, además de que le da un plus al producto es saludable para el consumidor.

4.2.3 Estructura química, clasificación y tipos de fibra

Ya que la fibra es un conjunto de diferentes macromoléculas, en su mayoría polisacáridos, en la Figura 1.3 se presentaran algunas de las estructuras de compuestos que son considerados FD.

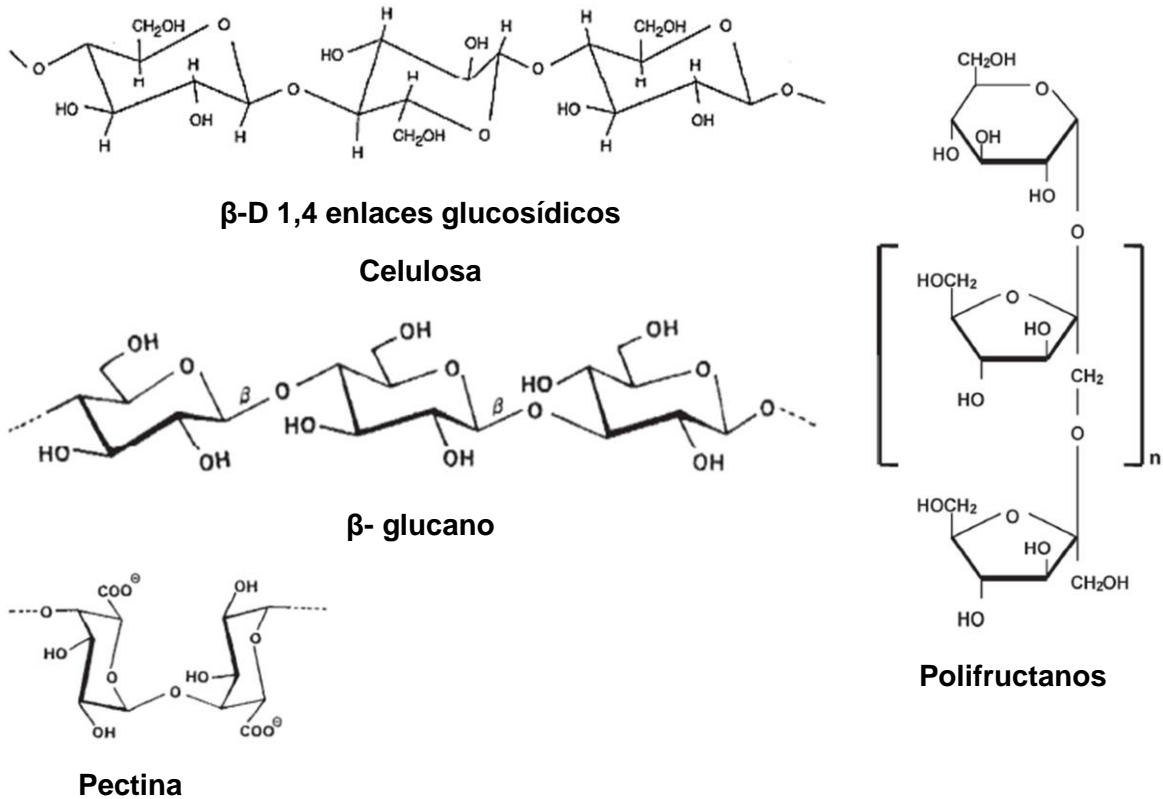


Figura 1.3 Estructura de algunos compuestos clasificados que integran a la fibra (Tunland y Meyer, 2002).

Existen diversos sistemas de clasificación para los componentes de FD, estos son basados en la función que tienen en la planta, en el tipo de polisacárido, en el sitio de digestión, etc. Sin embargo, ninguno de estos es netamente satisfactorio (Tunland y Meyer, 2002). Otra forma de clasificar a los tipos de fibra dietética, son los basados en la fermentabilidad que tienen en la microflora intestinal (Cuadro 1.9) y en la solubilidad que tienen los mismos en el intestino (Rodrigas *et al.*, 2006). En la Figura 1.4 se muestra la

clasificación de los componentes de FD con base en su solubilidad, basado en el contexto de métodos gravimétricos de Fibra Dietética Total (TDF) propuesto por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC).

Cuadro 1.9 Clasificación de componentes de fibra basados en la fermentabilidad.

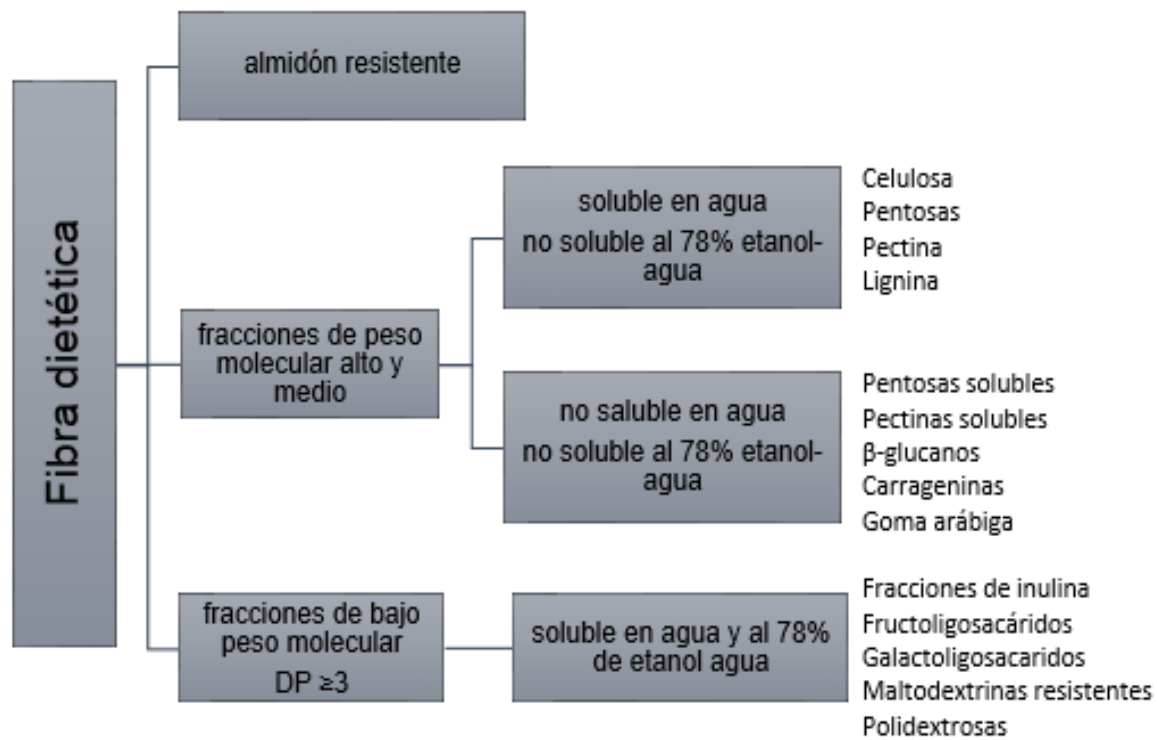
Características	Componentes de la fibra	Principales fuentes de alimentos
Parcial o baja fermentabilidad	Celulosa	Plantas (vegetales, remolacha, diversos salvados)
	Hemicelulosa	Granos de cereales
	Lignina	Plantas leñosas
	Cutina / suberina / otras ceras vegetales	Fibras de plantas
	Quitina y quitosano, colágeno	Hongos, levaduras , invertebrados
	Almidones resistentes	Plantas (maíz, papas, granos, leguminosas, plátanos)
	Curdano	Fermentación bacteriana
Bien fermentados	β -glucanos	Granos (avena, cebada, centeno)
	Pectinas	Frutas, vegetales, leguminosas, remolacha, papa
	Gomas	Plantas de semillas de leguminosas (guar, algarrobo frijol), extractos de algas marinas (carragenina, alginatos), extractos de plantas (goma de acacia, goma karaya, goma de tragacanto), gomas microbianas (xantano, gelano)
	Inulina	Achicoria , la alcachofa de Jerusalén, las cebollas, trigo
	Oligosacáridos/análogos	Diversas plantas y producido sintéticamente (polidextrosa, resistente maltodextrina, fructooligosacáridos , galactooligosacáridos, lactulosa)
	De origen animal	Condroitina

Fuente: Tunland y Meyer (2002).

Cabe destacar que en los últimos años se han desarrollado numerosas técnicas analíticas para determinar los diferentes componentes de la fibra (Rodríguez *et al.*, 2006;

Tosh y Yada 2010), algunos de ellos son fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, fibra enzimática, fibra dietética (Valdés, 2006). Entre estos métodos se encuentran los propuesto por AOAC denominado fibra dietética total (FDT), método basado en un análisis enzimático-gravimétrico, el cual determina fibra insoluble y fibra soluble de alto peso molecular (Hollmann *et al.*, 2013).

Los constituyentes principales de la fibra soluble (FS) y fibra insoluble (FI) incluyen: en la FS a las pectinas, β -glucanos, gomas galactomanona y varios oligosacáridos no digeribles, incluyendo a la inulina; en la FI esta la celulosa, hemicelulosa y lignina (Meyer, 2004).



DP= Grado de polimerización

Figura 1.4 Clasificación de componentes de Fibra dietética acorde a su solubilidad basado en el método de Fibra Dietética Total (TDF) propuesto por la AOAC (Hollmann *et al.*, 2013).

4.2.4 Fibra dietética en leguminosas

Las leguminosas son una excelente fuente de fibra dietética, pues contienen tanto fibra soluble como insoluble, y al ser consumidas promueven efectos fisiológicos que son beneficiosos para la salud humana (Tosh y Yada, 2010).

Actualmente, se ha promovido la ingesta de leguminosas por contener cantidades considerables de fibra dietética, estudios han demostrado el valor terapéutico que tiene, debido a que cumple una función muy importante en el bienestar del individuo. Por lo que las fracción de fibra obtenida de la molienda de semillas de leguminosas, pueden ser incorporadas a productos alimenticios para enriquecer su contenido de fibra y/o servir como un ingrediente funcional (Tosh y Yada, 2010). Es difícil conocer los componentes que integran la fibra presente en las leguminosas, ya que hay que considerar que la leguminosa tiene fibra tanto en la testa (parte externa de la semilla, más conocida como cáscara) como en el cotiledón (parte interna de la semilla, mayormente utilizada para el consumo humano). Tunglund y Meyer (2002) indican que en las leguminosas se pueden encontrar; almidones resistentes, pectinas, gomas y oligosacáridos. En la testa principalmente se encuentra fibra dietética insoluble (Gil y Ruiz, 2010) y en el cotiledón mayoritariamente se encuentra fibra soluble (Meuser, 2001). Muchos consumidores consumen las leguminosas sin cascara por lo que pierden una cantidad importante de fibra dietética que puede beneficiar al consumidor.

En el Cuadro 1.10 se muestran los resultados de la determinación de FDT de diferentes leguminosas en el que los investigadores consideraron en el análisis a la leguminosa completa (tanto el cotiledón como la testa).

Investigaciones realizadas por Giczewska y Borowska (2003), indican que el haba, es una leguminosa que se caracteriza por poseer un alto contenido en fibra dietética; estudios han demostrado que el haba (base seca) tiene entre 20-26 % de fibra en comparación con el chícharo (base seca) 13-18 %.

Estudios recientes sobre el impacto que tiene la germinación en semillas de leguminosas no convencionales, demostraron que hay un aumento de las fracciones de FS y FI en semillas germinadas, en comparación con semilla sin germinar (Benítez *et al.*, 2013), por lo que un incremento de fibra en leguminosas sería adecuado para los

consumidores, principalmente por los beneficios que aporta a la salud. También Benítez *et al.* (2013) evaluaron harina de semillas germinadas, y encontraron que existe una mejora en algunas propiedades fisicoquímicas que tiene la fibra como retención de aceite y agua, absorción de agua y capacidad de gelatinización.

Cuadro 1.10 Fibra dietética total en semillas de leguminosas.

Leguminosa	Compuesto: Cotiledón (C), Testa (T)	Contenido de Fibra Dietética Total (g/100 g)	Referencia
Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	C + T	10-18	Giczewska y Borowska (2003); Tosh y Yada (2010).
Haba (<i>Vicia faba</i> L.)	C+T	20-26	Giczewska y Borowska (2003).
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i>)	C+T	18-22	Tosh y Yada (2010).
Lentejas (<i>Lens culinaris</i>)	C+T	18-20	Tosh y Yada (2010).
Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	C+T	23-32	Tosh y Yada (2010).

4.2.5 La función de la fibra dietética en el organismo

La fibra dietética ha mostrado tener una importante implicación en la prevención de riesgos de enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus (Trinidad *et al.*, 2010), de ahí su importancia para conocer alimentos que puedan proporcionar cantidades adecuadas de FD al cuerpo para beneficiarse de sus propiedades funcionales. Una evidencia del consumo de fibra es que, de acuerdo al Estudio Prospectivo Europeo sobre Cáncer y Nutrición (EPIC), agencia dedicada a investigaciones sobre el cáncer, avalada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha demostrado que el consumo de 35 g de fibra al día reduce hasta 40 % el riesgo de contraer cáncer de colon, de manera que es necesario incrementar el consumo de importantes fuentes de fibra como son los cereales enteros, frutas y vegetales (IARC, 2003).

Un aumento de fibra en la ingesta del hombre ayuda a disminuir los niveles de colesterol, reduciendo así, el riesgo de contraer enfermedades del corazón; disminuye la glucosa en sangre y normaliza los niveles de insulina, beneficiando de esa manera a los enfermos que padecen diabetes; también evita la obesidad, ya que induce el gusto de saciedad provocando un menor consumo de energía; ayuda a mejorar la función del intestino grueso en la digestión y a prevenir algunas formas de cáncer (Burton, 2000; Tosh y Yada, 2010). En la fibra dietética se encuentra tanto FI y FS, estas dos fracciones tienen distintas funciones fisiológicas que promueven beneficios en la salud (Tosh y Yada, 2010). La FI promueve principalmente el movimiento de material a través del sistema digestivo, por lo que acelera el tránsito intestinal (Escudero y González, 2006), casi toda la FI es fermentada en el intestino grueso y esta ayuda al crecimiento de la microflora intestinal, mientras que la FS ayuda a disminuir el colesterol en la sangre y regula los niveles de glucosa en la misma (Rodríguez *et al.*, 2006).

Los efectos fisiológicos que proporciona la fibra dietética al cuerpo dependen de muchas variables, una de ellas son las características reológicas que tienen algunas fibras como, la formación de geles (oligosacáridos no digeribles), si son viscosas (goma guar; disminución del vaciado gástrico y el incremento del tránsito intestinal), o la capacidad que tienen para retener agua (celulosa; influye en el volumen y bolo fecal del intestino) (Tunland y Meyer, 2002; Meyer, 2004). Otra variable se relaciona con la fermentabilidad que tiene cada tipo de fibra, si es altamente o moderadamente fermentable. De acuerdo a Tunland y Meyer (2002) mencionan que los mejores beneficios que se adquieren de la fibra, están en el efecto que se origina en la microflora del tracto intestinal a través de su fermentación, esto sucede principalmente en el intestino grueso. Estos beneficios son brindados por la síntesis de productos que son originados por la fermentación (fermentación ocasionada por las enzimas de las bacterias de la flora intestinal). Los productos son gases intestinales (metano, hidrogeno, dióxido de carbono) los cuales ayudan a generar movimientos peristálticos en el intestino, también se producen ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales tienen una gran importancia en la salud humana, ya que confieren diferentes efectos fisiológicos (Figura 1.5).

4.2.6 El uso de la fibra dietética en productos alimenticios

Este polisacárido no amiláceo es muy utilizado en el desarrollo de ingredientes para la producción de alimentos, industrias y para los consumidores, debido a su versatilidad de propiedades fisicoquímicas que posee y que aporta a los productos (Elleuch *et al.*, 2011). Por mencionar algunas, la fibra dietética incrementa la capacidad de mantener el agua y el aceite, ayuda a la emulsificación, a incrementar la viscosidad, a dar textura, genera la formación de gel y aporta características sensoriales (Elleuch *et al.*, 2011).

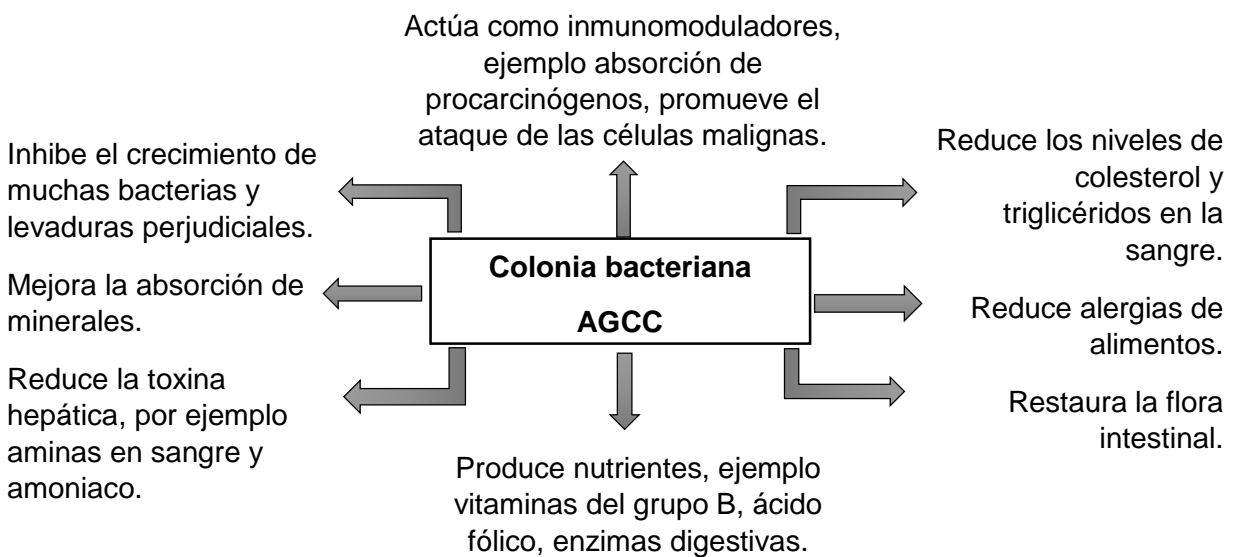


Figura 1.5 Representación esquemática que muestra la relación entre las bacterias colónicas y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC): y su relación con los efectos fisiológicos (Tungland y Meyer, 2002).

Agregarle fibra como un aditivo a los productos alimenticios le da una característica particular, la fibra es comúnmente utilizada para la fabricación de varios alimentos, como jamones, panes, sopas, carnes, pasteles (Elleuch *et al.*, 2011), yogurts, bebidas, postres congelados, budines (Goff, 2013), entre otros.

Debido a que la fibra brinda beneficios a la salud, se toma el interés por enriquecer productos alimenticios con fibra (aunque no sea indispensable para su elaboración) para compensar su deficiencia en la dieta de las persona por la falta de consumo de fuentes naturales de fibra como, frutas, vegetales, leguminosas, granos enteros (Goff, 2013).

Además de que el aumento de fibra en productos alimenticios no solo mejora las propiedades funcionales (atributos del alimento) sino también mejoran el sabor de los productos (Tunland y Meyer, 2002).

En la actualidad, encontramos un sinnúmero de productos ricos en fibra, es añadido con la finalidad de darle un plus al producto y denominarlo producto o alimento funcional.

4.3 Isoflavonas

4.3.1 Los flavonoides

Los polifenoles son unos de los compuestos más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se sintetizan en el metabolismo secundario de las plantas. Una característica es que se encuentran generalmente unidos a los azúcares por lo que son solubles en agua (Ross y Kasum, 2002). Los polifenoles son los responsables de muchas de las coloraciones presentes en las flores (Harbourne, 1993), proporcionan resistencia contra organismos patógenos y depredadores, son indispensables para el desarrollo de las plantas y se caracterizan por actuar como atrayentes de animales para lograr la reproducción (Bravo, 1998), también se conocen por ser agentes protectores contra la luz UV (Cartaya y Reynaldo, 2001).

Un grupo muy amplio de compuestos polifenólicos son los flavonoides (Cartaya y Reynaldo, 2001). En las plantas vasculares se localizan en forma de glucósidos (Cartaya y Reynaldo, 2001). Se caracterizan por ser estudiados en el campo de la salud, ya que se ha encontrado que tienen efectos biológicos como capacidad antioxidante, antiestrogénico y actividades antiproliferativas, lo que proporciona un beneficio potencial en enfermedades cardiovasculares y cáncer (Ross y Kasum, 2002).

La estructura común que identifica a los flavonoides es difenilpropanona ($C_6-C_3-C_6$); consta de dos anillos aromáticos bencénicos (A, B) unidos a través de tres carbonos los cuales forman o no un tercer anillo heterocíclico (C) (Bravo, 1998; Cartaya y Reynaldo, 2001; Ross y Kasum, 2002). En la Figura 1.6 se aprecia la estructura básica de los flavonoides y el sistema usado para la numeración del carbono del núcleo flavonoide (Bravo, 1998).

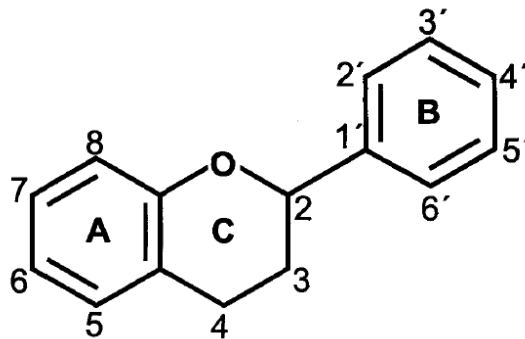


Figura 1.6 Estructura básica de los flavonoides y su sistema de numeración (Bravo, 1998).

Los compuestos que integran a los flavonoides se subdividen en seis grandes subclases con base en las diferencias que se tienen en el anillo heterocíclico C, y se encuentran las flavonas, flavonoles, flavanonas, catequinas (flavonoles), antocianidinas y las isoflavonas (Figura 1.7) (Ross y Kasum, 2002). Estos compuestos los podemos encontrar en diversos alimentos, algunos ejemplos se observan en la Figura 1.7. Sin embargo, las tres clases de flavonoides que han tenido mayor atención en el área de alimentos nutraceuticos y funcionales son tres, antocianinas, isoflavonoides y flavonoles (Valls *et al.*, 2009).

4.3.2 Las isoflavonas y sus características químicas

Las isoflavonas, que son una subclase de los flavonoides se encuentran más restringidas en el reino vegetal, primordialmente se localizan en la subfamilia de la Leguminosae y Papilionoideae (Faboideae) (Mazur y Adlercreutz, 1998). Comprenden al frijol, garbanzo, haba, entre otras. Estudios encaminados a la detección de isoflavonas son generalmente realizados en soya (*Glicine max*) o en alimentos a base de soya (Wang y Murphy, 1994a; Yuan *et al.*, 2006; César *et al.*, 2006), hasta la fecha se conoce que esta leguminosa las contiene en altas cantidades en comparación con otras. En su estructura se posiciona en el lugar número tres del anillo bencénico B, a diferencia de las flavonas que se encuentran en la posición dos (Wang y Murphy, 1994a; Messina, 1999) (Figura 1.6 y 1.7). Las isoflavonas encontradas en soya o en sus subproductos son genisteína, daidzeína y gliciteína, los cuales se pueden hallar en sus cuatro clases de isómeros, malonil-glucósido (6"-O-malonildaidzina, 6"-O-malonilglicitina, 6"-O-malonilgenistina),

acetil-glucósido (6" O-Acetildaidzina, 6" -O-acetilglicitina, 6" -O-acetilgenistina), glucósido (daidzina, glicitina, genistina), o aglicona (daidzeína, gliciteína, genisteína) (Kudou, 1991; Wang y Murphy, 1994a). La Figura 1.8 muestra la estructura química de las principales isoflavonas encontradas en la soya.

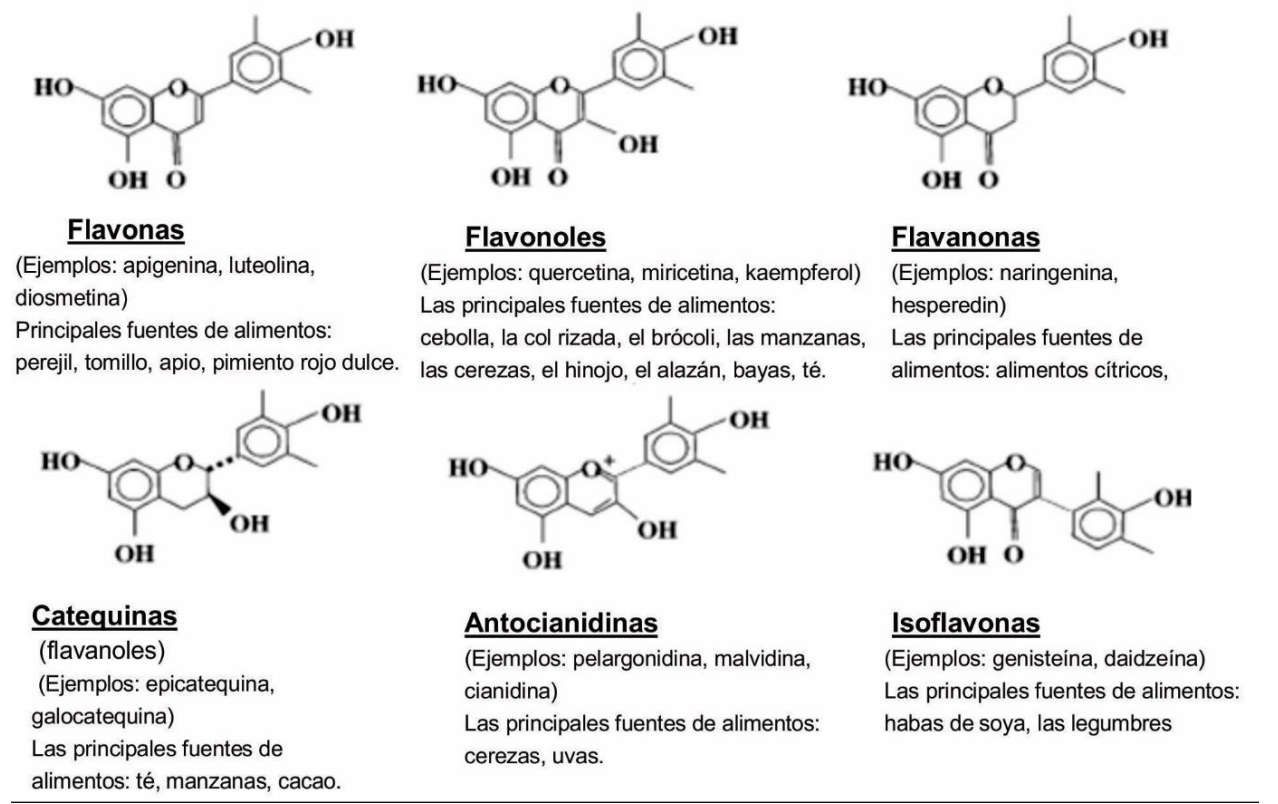
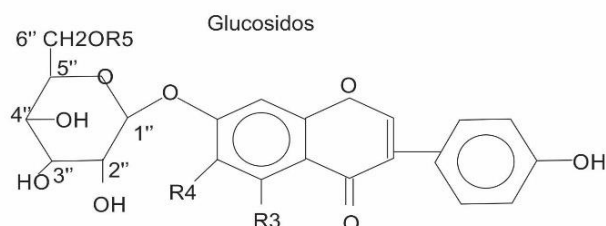
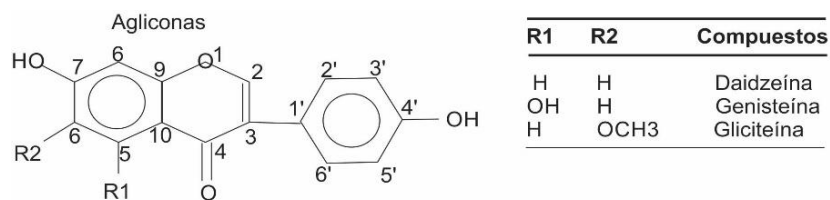


Figura 1.7 Estructura química de flavonoides y las principales fuentes de alimentos en donde se pueden encontrar (Ross y Kasum, 2002).

4.3.3. Isoflavonas, fitoestrógenos y su relación con la salud

Estos compuestos se caracterizan por tener actividad biológica estrogénica, gracias a su gran parecido con el estrógeno 17 β -estradiol (Anderson, *et al.*, 1999; Duncan *et al.*, 2003). Y es que los fitoestrógenos promueven un beneficio en el organismo, mejoran las patologías ocasionadas por la menopausia, como quimiopreventivos en cáncer de mama y próstata, además se les relaciona con la mejora de enfermedades óseas (osteoporosis) (Anderson, *et al.*, 1999).



R3	R4	R5	Componentes
H	H	H	Daidzina
OH	H	H	Genistina
H	OCH ₃	H	Gliciteina
H	H	COCH ₃	6'' O-Acetildaidzina
OH	H	COCH ₃	6'' -O-Acetilgenistina
H	OCH ₃	COCH ₃	6'' -O-Acetilgliciteina
H	H	COCH ₂ COOH	6'' -O-malonildaizina
OH	H	COCH ₂ COOH	6''-O-malonilgenistina
H	OCH ₃	COCH ₂ COOH	6''-O-malonilgliciteina

Figura 1.8 Estructura química de 12 isómeros de isoflavonas (Kudou *et al.*, 1991; Wang y Murphy, 1994a).

Las tres principales clases de fitoestrógenos son isoflavonas, cumestanos y lignanos (Murkies *et al.*, 1998). Existen reportados 364 agliconas, sin embargo las agliconas mayormente investigadas (por su relación estrogenica) son genisteína, daidzeína, biochanina A y formononetina (Mazur y Adlercreutz, 1998). La Figura 1.9 ilustra la semejanza estructural que existe entre el 17 β -estradiol y las isoflavonas daidzeína, genisteína y gliciteína.

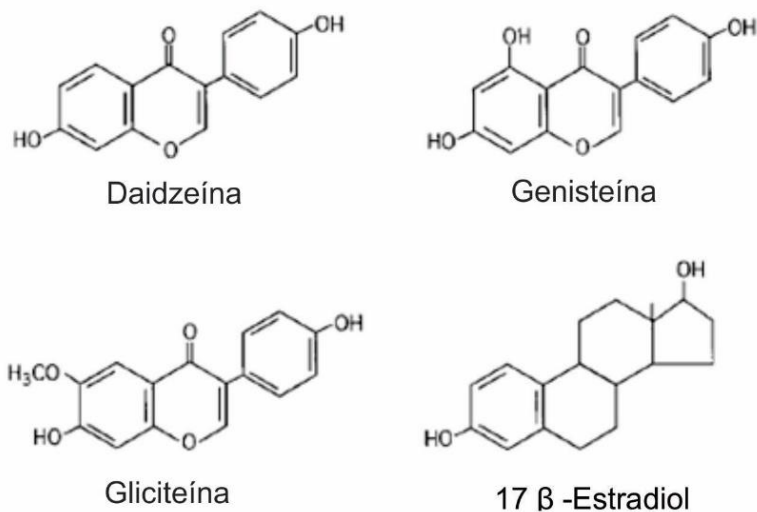


Figura 1.9 Semejanza de la estructura química de las agliconas con el principal estrógeno encontrado en el ser humano (Anderson, *et al.*, 1999).

Esta acción beneficiosa comienza por la ingesta de alimentos que contienen isoflavonas (en lo particular soya), estas son hidrolizadas por las glucosidasas que habitan en el intestino, provocando la liberación de agliconas; se absorben o metabolizan otros compuestos con mayor o menor actividad, dependiendo del substrato metabolizado y el producto formado, algunos de estos pueden ser, equol, dehidrodaidzeína, O-desmetilangolensina (siendo su precursor daidzeína) y p-etilfenol (siendo su precursor genisteína) (Setchell y Cassidy, 1999; Lampe, 2009).

La idea de que estos fitoestrógenos tuvieran un beneficio en la salud, se inició por investigaciones realizadas en países donde el consumo de alimentos que contienen isoflavonas es frecuente, observando que había una correlación negativa entre el consumo de los alimentos ricos en fitoestrógenos y la disminución de ciertas enfermedades.

Diferentes autores señalan los posibles efectos preventivos que pueden tener estos fitoestrógenos en enfermedades crónicas, comúnmente presentes en estos tiempos, como son enfermedades cardiovasculares, cáncer de mamá y próstata, osteoporosis y un mejoramiento en los síntomas de la premenopausia y posmenopausia (Murkies *et al.*, 1998; Anderson *et al.*, 1999; Messina, 1999; Setchell y Cassidy, 1999). Sin embargo,

Murkies *et al.* (1998) argumentan que aún hace falta un mayor número de estudios para poder confirmar los efectos clínicos que tienen estos metabolitos.

De acuerdo con Anderson *et al.* (1999) “...los efectos de la soya parecen ser específicos de cada tejido, es decir, en algunos tejidos estas moléculas derivados de la soya actúan como estrógenos (agonistas), mientras que en otros puede actuar como antagonistas de estrógenos...” “...Las dosis de isoflavonas tienen que ser altas de 60-100 mg al día para ejercer efectos beneficiosos sobre las células presentes en diferentes tejidos del cuerpo...” “...para la eficacia en tejido cardiovascular y óseo parece ser mayor de 60 mg al día, mientras que las dosis para síntomas climatéricos son más bajas, aproximadamente 20 mg por día...” “...La administración de isoflavonas de soya aisladas... no han demostrado ser tan eficaces en la promoción de efectos beneficiosos sobre los tejidos cardiovasculares como la misma dosis de isoflavonas administrada junto con proteína de soya...” “...por lo que una dieta que contiene soya y sus fitoestrógenos puede ser más propensa a promover beneficios en la salud que suplementos solos de isoflavonas...” “...Los efectos de las isoflavonas en la prevención de cánceres específicos siguen siendo muy incierto...”

4.3.4 Biosíntesis de las isoflavonas

Los polifenoles son sintetizados en el metabolismo secundario de las plantas (Ross y Kasum, 2002), en el caso de las isoflavonas son sintetizadas por la vía metabólica de los fenilpropanoides (Dixon y Paiva *et al.*, 1995; Yu *et al.*, 2000), donde también se sintetizan otros compuestos como ligninas, antocianinas y ciertos tipos de fitoalexinas, las cuales se hallan tanto en el desarrollo normal de la planta como en ambientes de estrés biótico y abiótico (ataque de patógenos, bajo contenido de nitrógeno, fósforo y hierro en el suelo, exposición alta a la luz UV, baja temperatura, rupturas o heridas, etc.). Sin embargo, de acuerdo con Dixon y Paiva (1995) en su trabajo mencionan que cuando la planta se desarrolla en un ambiente de estrés, hay un mayor aumento de estos metabolitos, pues en esas condiciones es inducido el metabolismo de los fenilpropanoides en respuesta de ataque contra patógenos.

La enzima que genera el primer paso en la rama de la vía de fenilpropanoide para la biosíntesis de isoflavonas es la Isoflavona sintasa (Jung *et al.*, 2000). En la Figura 1.10 se

aprecia un diagrama de la ruta metabólica de los fenilpropanoides, en donde se observan las enzimas y los intermediarios involucrados para la biosíntesis.

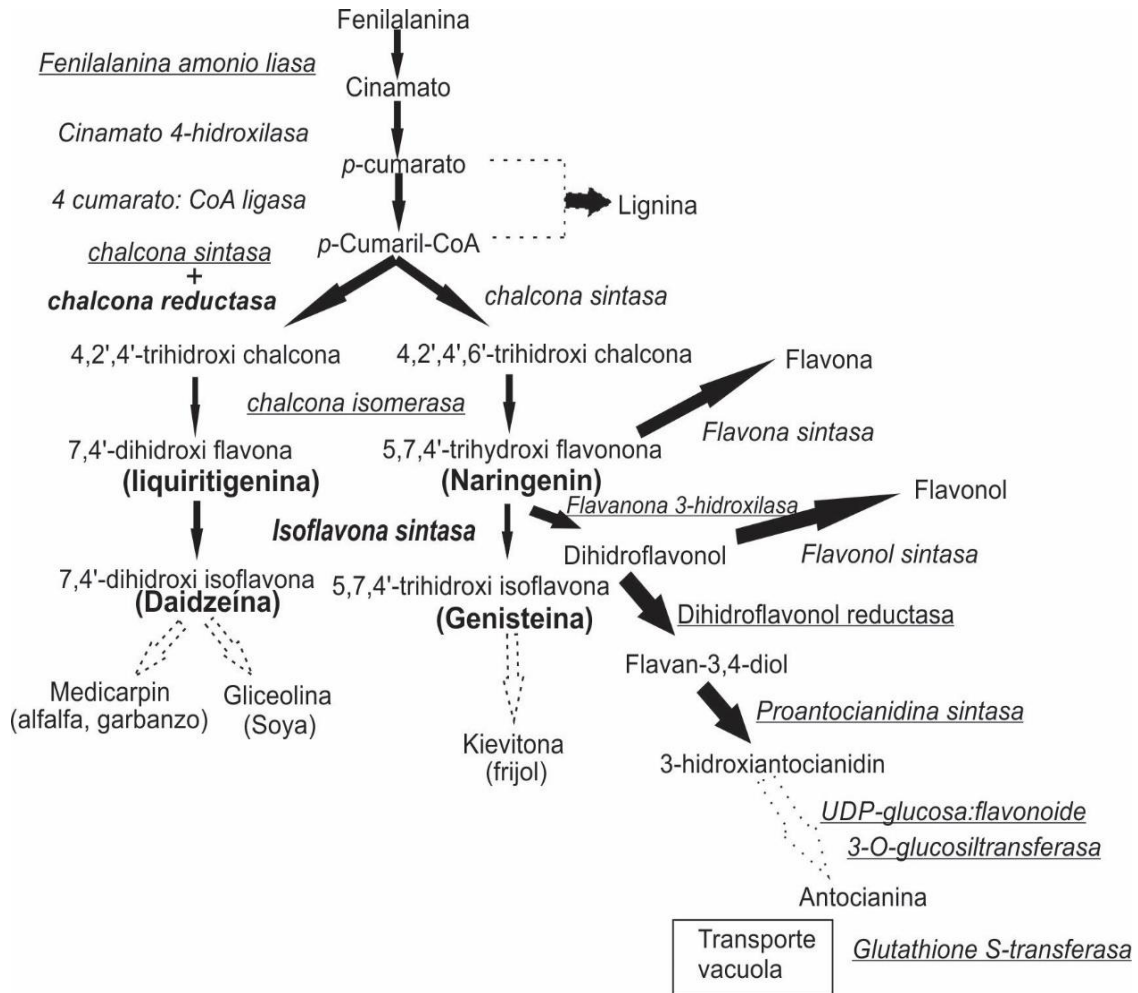


Figura 1.10 Vía metabólica de los fenilpropanoides. Enzimas en negrita, los genes que codifican las enzimas se encuentran subrayadas, las líneas punteadas representan múltiples pasos y las enzimas se encuentran en itálicas (Yu *et al.*, 2000).

Jung *et al.* (2000) encontraron dos genes involucrados en la actividad enzimática de la Isoflavona sintasa, y sugieren que la identificación de los genes de esta enzima permitirá la manipulación de la ruta de los fenilpropanoides para controlar la producción de isoflavonas, ya sea para una mayor o menor producción en plantas de leguminosas, que son los alimentos en donde predominan estos metabolitos o en otros alimentos o plantas que no sean leguminosas en donde escasean las isoflavonas, con la finalidad de

un propósito agronómico (protección contra patógenos) o nutricional (para diferentes usos en productos).

4.3.5 Isoflavonas en leguminosas

Las isoflavonas como daidzeína y genisteína principalmente se encuentran en la soya y en otras leguminosas (Jung *et al.*, 2000). Las cantidades van a variar dependiendo de la variedad, año del cultivo y la locación (Wang y Morphy, 1994b). En una investigación sobre la composición de isoflavonas en diferentes tejidos de semillas de soya muestran que daidzeína, genisteína y sus conjugados son los mayores metabolitos solubles encontrados en raíces, hipocótilos y cotiledones, donde los mejores valores de Daidzeína y Genisteína se hallaron en las raíces, principalmente en el primera sección de la punta de la raíz (1 mm), además los resultados demostraron que los niveles de isoflavonas y otros fenoles son característicos de cada órgano (Graham, 1991).

De acuerdo con Saviranta *et al.* (2008) en su investigación evaluaron la concentración de cuatro isoflavonas en trébol rojo (*Trifolium pratense* L.) en diferentes tejidos de la planta; hojas, tallos, raíces y flores, encontrando cantidades muy pequeñas de daidzeína y genisteína (0 – 0.28, 0.07 – 0.54 mg g⁻¹ Materia seca (MS), respectivamente) en comparación de formononetina y biochanina A. (2.89 – 9.05, 1.55 – 14.59 mg g⁻¹ MS). La propuesta de la investigación es que las isoflavonas tienen muchas aplicaciones relacionadas a la salud, además de que estos compuestos bioactivos también tienen actividad antifúngica de protección contra *Drechslera teres* y *Microdochium nivale*.

Al evaluar bebidas de soya y de tofu elaboradas con variedades de semillas de soya transgénica y no transgénica, los resultados mostraron que los procesos industriales de los subproductos derivados inciden en el contenido de isoflavonas, encontrando una reducción de las mismas en todos los pasos de la elaboración, además, en las variedades no transgénicas el contenido de genisteína es mayor que el de daidzeína y sucede lo contrario en las variedades modificadas genéticamente (Ludueña *et al.*, 2007). Algunos otros estudios demuestran que estos fitoquímicos en varias leguminosas pueden ser aislados de diferentes tejidos de las plantas como las hojas, tallos, raíces, granos etc. encontrando diferentes contenidos de isoflavonas en cada estructura de la planta (Kaufman *et al.*, 1997). Yu *et al.* (2000), en su trabajo mencionan la existencia de

genisteína y daidzeína en tejidos de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas (*Nicotiana tabacum*, *Zea mays* y *Arabidopsis thaliana*). Por su parte Kaufman *et al.* (2007), encontraron que en el tallo de haba a pesar de no ser un tejido consumido es una excelente fuente de isoflavonas, donde Daidzeína fue el metabolito principalmente encontrado con concentraciones que variaron dependiente del cultivar, pero en uno de ellos con valores de hasta 1 g kg⁻¹ MS.

4.3.5 Extracción y análisis de isoflavonas

Las isoflavonas existen en forma libre como agliconas y de manera conjugada como acetil, malonil y glucosilados, sin embargo, en soya se encuentran predominantemente como glucosidos y malonil glucosidos (conjugados) (Luthria y Natarajan, 2009). Debido a que estos metabolitos se encuentran conjugados (unidos a azúcares) se necesita de ciertas reacciones para liberar los metabolitos y ser analizados mejor. Estudios han confirmado que para una mejor extracción y separación de estos metabolitos secundarios se necesita de una derivatización, en donde esta se puede realizar por medio de hidrólisis ácida (Chiang *et al.*, 2001; César *et al.*, 2006; Yuan *et al.*, 2006; César *et al.*, 2007) o básica (Yuan *et al.*, 2006), o con hidrólisis enzimática (Mazur y Adlercreutz, 1998), siendo la hidrólisis ácida la más utilizada en investigación.

Chiang *et al.* (2001) trabajaron con la metodología de superficie de respuesta para la extracción de isoflavonas en hipocótilos de soya asumiendo que los tres factores más importantes para la determinación del total de isoflavonas son la concentración de la hidrólisis (en este experimento fue ácida), el tiempo de la hidrólisis y la temperatura de reacción; los resultados mostraron que las condiciones óptimas para la extracción de estos metabolitos fueron; una concentración de 3.42 N HCl, en un tiempo de 205.5 min y una temperatura de 44.6 °C, con estas condiciones se detectaron en el hipocótilo 11.82 mg g⁻¹ de isoflavonas totales.

Entre los métodos mayormente utilizados para análisis de isoflavonas se encuentran cromatografía de capa fina (CCF), la cual identifica cualitativamente la presencia o ausencia de las mismas (Yuan *et al.*, 2006; César *et al.*, 2007) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) donde su determinación es cuantitativa (Yu *et al.*, 2000; César *et al.*, 2006; Yuan *et al.*, 2006). Algunos autores mencionan que la determinación cuantitativa

de glucósidos y agliconas, involucra un largo tiempo de análisis, un alto costo y dificultades para optimizar las condiciones cromatográficas (César *et al.*, 2006; César *et al.*, 2007). Por su parte, Luthria y Natarajan (2009) dan a conocer una amplia variación de metodologías empleadas para la extracción de isoflavonas en diferentes matrices vegetales (leche de soya, hojuelas de soya, tallo [*Pueraria lobata*], pasteles de soya) y su posterior análisis con HPLC.

4.4 Proteínas y aminoácidos

4.4.1 Proteínas y su función biológica

Las proteínas son un grupo de biopolímeros conformadas por aminoácidos, siendo estas sus unidades químicas más simples (Boyer, 2000; Gálvez *et al.*, 2006). Cada tipo de proteína tiene una estructura particular y definida, la cual se genera por los aminoácidos que la componen y está determinada genéticamente (Boyer, 2000).

Por todas las combinaciones existentes (dada por la composición y secuencia de aminoácidos), las proteínas tienen diversas funciones (Boyer, 2000). Su importancia radica en los tejidos, como enzimas, como componentes estructurales de las células, como reguladores de una variedad de funciones en el organismo y como fuente de energía (Maartin y Sadava, 1994). En la Cuadro 1.11 se simplifican algunas de las funciones biológicas que proporcionan las proteínas.

4.4.2 Aminoácidos esenciales, no esenciales y su relación con la calidad proteica

Existen veinte aminoácidos que son codificados genéticamente para incorporarse a las proteínas (Boyer, 2000; Gálvez *et al.*, 2006). Todos los aminoácidos tienen una estructura general, el carbono central alfa, el cual se encuentra unido covalentemente por un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y una cadena lateral R (que depende de cada aminoácido) (Figura 1.11), debido a esta distribución de los grupos funcionales alrededor del carbono central α es que se les denomina α -aminoácidos (Boyer, 2000).

Cuadro 1.11 Funciones biológicas de las proteínas.

Función biológica	Actividad	Ejemplo
<i>Catalizador bioquímico</i>	Estos catalizadores biológicos se les denominan enzimas, las cuales son proteínas y catalizan las reacciones bioquímicas que se efectúan en el organismo.	La miosina actúa catalizando la hidrólisis de ATP.
<i>Componentes estructurales</i>	Algunas proteínas contribuyen a la morfología y propiedades físicas de las células, tejidos y órganos.	Las proteínas que integran el citoesqueleto.
<i>Transporte y reserva</i>	Existen proteínas transportadoras de biomoléculas tanto en el interior de la célula como el exterior. Otras tienen funciones de reserva.	Como las lipoproteínas que transportan lípidos en la sangre y la caseína de la leche, que suministra ácido fosfórico y aminoácidos al recién nacido.
<i>Hormonal</i>	Proteínas que tienen una función hormonal, actúan como mensajeros químicos de un tejido a otro, a través de la sangre.	La hormona somatotropa, estimula la proliferación del cartílago de crecimiento (la longitud de huesos).
<i>Contracción muscular</i>	Células que poseen proteínas filamentosas son capaces de contraerse.	El complejo actina-miosina del músculo.
<i>Reconocimiento celular y defensa</i>	Muchas células son capaces de reconocer si las células adyacentes pertenecen o no a la misma especie o al mismo tejido.	Las inmunoglobulinas son proteínas de defensa.

Fuente: Macarulla y Goñi (1994).

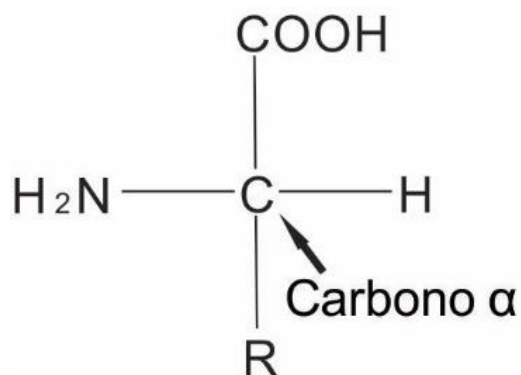


Figura 1.11 Estructura general de los 20 aminoácidos que conforman las proteínas (Boyer, 2000).

De los veinte aminoácidos existentes que forman a las proteínas ocho son considerados esenciales o también llamados indispensables, puesto que no son sintetizados en el organismo humano y deben ser suministrados en la dieta con una variedad de alimentos que los contengan; el resto de aminoácidos se denominan no esenciales o no indispensables, ya que estos si son sintetizados eficazmente por el organismo (Maartin y Sadava, 1994; Gálvez *et al.*, 2006). En el Cuadro 1.12 se puede apreciar los aminoácidos esenciales y no esenciales que se encuentran en las proteínas y en la Figura 1.12 se muestran tres estructuras de aminoácidos esenciales.

Cuadro 1.12 Aminoácidos esenciales y no esenciales encontrados en las proteínas

	Aminoácidos	Código de tres letras	Código de una letra
Esenciales	Leucina	Leu	L
	Isoleucina	Ile	I
	Lisina	Lys	K
	Metionina	Met	M
	Fenilalanina	Phe	F
	Treonina	Thr	T
	Triptófano	Trp	W
	Valina	Val	V
No esenciales	Histidina	His	H
	Glicina	Gly	G
	Alanina	Ala	A
	Ácido aspártico	Asp	D
	Ácido glutámico	Glu	E
	Asparaginina	Asn	N
	Glutamina	Gln	Q
	Cisteína	Cys	C
	Prolina	Pro	P
	Tirosina	Tyr	Y
	Serina	Ser	S
	Arginina	Arg	R

Fuente: Bayer (2000); Gálvez *et al.* (2006).

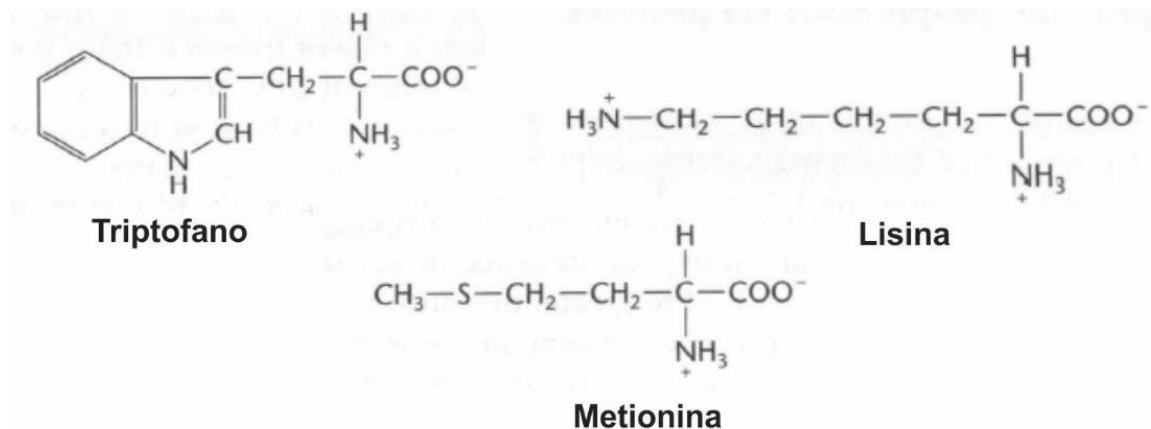


Figura 1.12 Estructura de tres aminoácidos esenciales (Maartin y Sadava, 1994).

El consumo de alimentos que contengan los aminoácidos esenciales es muy importante para una buena nutrición, la proteína animal generalmente tiene un valor superior que la proteína vegetal debido a que en las plantas no se encuentran todos los aminoácidos esenciales o tienden a tener valores bajos en aminoácidos como triptófano, metionina y lisina, por lo que es adecuado consumir una mezcla de ambos alimentos (vegetal como animal) para que uno complemente al otro y se cumpla con las recomendaciones diarias de proteínas y aminoácidos que el cuerpo necesita (Maartin y Sadava, 1994).

La alimentación humana no solo requiere de la disponibilidad de la proteína, sino también de una buena calidad (Gálvez *et al.*, 2006). De acuerdo con Maartin y Sadava (1994), los alimentos con un rico valor proteico no solo dependen de su digestibilidad, sino también de la abundante presencia de los ocho aminoácidos esenciales. Moltó (2006) menciona que “la calidad de una proteína representa el grado de aproximación química (contenido y proporción de aminoácidos) de la proteína de la dieta respecto a la del cuerpo”. Gálvez *et al.* (2006) mencionan de una manera más clara lo referente a calidad proteica y es que “depende tanto de la proporción de aminoácidos esenciales que contiene en relación con los requerimientos humanos, como de la biodisponibilidad de los mismos, término que se refiere a la capacidad para incorporar los aminoácidos de la dieta a las

estructuras corporales y que puede verse afectada tanto por una mala digestión como por una absorción incompleta”.

Existen diferentes índices y métodos para evaluar la calidad proteica, estos pueden ser tanto químicos (aminograma, cómputo o índice químico, índice de aminoácidos esenciales y lisina disponible) como biológicos (coeficiente de eficacia en crecimiento (CEC), coeficiente de digestibilidad aparente (CDA), coeficiente de digestibilidad verdadera (CDV), valor biológico (VB), utilización neta de la proteína (UNP) y calificación de aminoácidos corregida por la digestibilidad de la proteína (PDCAAS)) (Moltó *et al.*, 2006). Uno de los índices químicos que toma en cuenta la FAO fue el propuesto por Mitchell y Block (1946) quienes refieren al huevo como el alimento que contiene proteína completa, y lo toman como referencia para evaluar los aminoácidos esenciales en otros productos. Su estudio mostró que por déficit de algún aminoácido esencial, limitaba los valores de las proteínas que promueven el crecimiento de las ratas. A este valor se le nombra cómputo químico, índice químico o en inglés *chemical score*, donde considera al huevo como uno de sus patrones para la estimación, teniendo una máxima calidad proteica de 100 (FAO, 1970; Moltó, 2006; Gil y Ruiz, 2010). Para su evaluación se utilizan aminogramas (cuantificación de cada uno de los aminoácidos que constituyen las proteínas) y es el porcentaje entre el contenido de cada aminoácido esencial de la proteína en estudio y el contenido de ese mismo aminoácido de la proteína patrón, denominada relación huevo del aminoácido, por lo que el aminoácido limitante es el que presente menor porcentaje en esta relación y es el denominado cómputo químico (Gil y Ruiz, 2010). En el Cuadro 1.13 se muestran datos de la FAO de los aminoácidos presentes en el frijol y en el haba y su valor de cómputo químico.

Como se puede apreciar en el Cuadro 1.13, aunque el haba tenga mayor porcentaje de proteína ($23.4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) que el frijol ($22.5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), el cómputo químico muestra un mejor porcentaje en el frijol (34 %) que en el haba (28 %), debido a que el haba tiene una concentración menor de dos de los aminoácidos esenciales, metionina y lisina, por lo que se puede inferir que el haba aunque tenga mejor valor proteico, posee menor calidad de proteína que el frijol. Sin embargo, Suárez *et al.* (2006) evalúan de otra manera la calidad de las proteínas, utilizando el valor cómputo químico pero corregido por el valor de digestibilidad proteica. Mencionan que el cómputo químico solo refleja el contenido de aminoácidos en comparación con el de la proteína ideal, pero no se conoce la utilización

de los aminoácidos en el organismo, por lo que este valor es más preciso para calcular la dosis inocua de proteínas y así mismo la calidad proteica. En dicho trabajo se evaluaron 70 alimentos consumidos habitualmente, entre ellos el haba, indicando que tiene 51.48 % de digestibilidad proteica mientras que los alimentos de origen animal como leche, huevo y diferentes carnes se encuentran entre 94 - 97 %.

Cuadro 1.13 Contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales en *Vicia faba*.

Aminoácido (mg/g alimento)	Alimento	
	Frijol Bean (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	Haba Broad bean (<i>Vicia faba</i>)
Ile	927	936
Leu	1685	1659
Lys	1593	1513
Met	234	172
Cys	188	187
Phe	1154	1011
Tyr	559	749
Thr	878	786
Trp	-	-
Val	1016	1030
Arg	1257	2082
His	627	554
Ala	927	976
Asp	2648	2628
Glu	3271	3527
Gly	839	966
Pro	789	932
Ser	1228	1048
Total aa esenciales	8457	8244
Total aa	20043	20951
Cómputo químico	34	28
Proteína g/100g	22.5	23.4

Fuente: FAO (1970). Para el contenido de proteína se utilizó un factor de 6.25.
Para los resultados de cómputo químico se utilizó al huevo como proteína básica.

4.4.3 Proteínas y aminoácidos en el haba

A las leguminosas se les consideran alimentos ideales para el consumo humano por ser una rica fuente de proteína, además por contribuir a la nutrición de personas de bajos recursos se les ha denominado “la carne de los pobres” (Tharanathan y Mahadevamma, 2003). Vioque *et al.* (2012) en su estudio caracterizaron proteína de *Vicia faba* L., concluyeron que la proteína aislada tiene alta calidad y que además contienen pocos residuos de antinutrientes (vicina y convicina). Respecto a los subproductos obtenidos del aislamiento proteico, los resultados obtenidos indican que pueden ser utilizados como fuentes de componentes funcionales de alta calidad (Vioque *et al.*, 2012).

En harina de semilla entera de haba (testa y cotiledón), los resultados de proteína fueron 26.6 % (determinada con análisis elemental de % nitrógeno, usando un factor de 6.25) y en proteína aislada se obtuvo un valor del 92.4 % (Vioque *et al.*, 2012). Por su valor proteico el haba no solo es consumida por individuos, sino también es considerada para alimento animal. De acuerdo al estudio de Nalle *et al.* (2010) el valor nutricional de cuatro cultivares de *Vicia faba* L. para proponerlo como alternativa de alimento para pollos de engorda; se basó en la energía metabolizable aparente, en la digestibilidad ileal de los aminoácidos (la cual sirve para evaluar la disponibilidad de aminoácidos en los ingredientes del alimento) y en el efecto de la alimentación de los pollos, en el tracto digestivo. Los resultados mostraron que el haba es una buena fuente de energía y aminoácidos y que puede ser incluido como alimento para pollos de engorda, ya que no se encontraron efectos sobre el desempeño y desarrollo del tracto digestivo.

Respecto a los aminoácidos estudiados en harina de semilla completa de *Vicia faba* L., se evaluaron 18 aminoácidos por medio de HPLC, se detectó que tiene bajos contenidos de metionina 0.2 % y triptófano 0.4% (Vioque *et al.*, 2012). En la estimación de aminoácidos esenciales y no esenciales analizados en cuatro cultivares de haba, en los que no incluyeron a triptófano y asparaginina, muestran que los aminoácidos con valores más altos en todos los cultivares fueron ácido glutámico, ácido aspártico y arginina (32.9 - 40.03, 22.1 - 28.0, 21.2 - 25 g kg⁻¹), mientras que metionina y cisteína (2.11 - 2.26, 3.22 - 3.86 g kg⁻¹) resultaron en todos los cultivares ser los aminoácidos más bajos (Nalle *et al.*, 2010).

5. Investigaciones de componentes nutricionales y funcionales en especies vegetales relacionadas con el efecto año de cultivo, genotipo, ambiente e interacción genotipo/ambiente

En años recientes el estudio de componentes en alimentos ha ido tomando un rumbo diferente, ya no es suficiente solo analizar cuantitativamente su composición, sino también se enfoca en analizar los factores ambientales (A), genéticos (G) y la interacción genotipo ambiente (GxA), que afectan o benefician el valor del componente estudiado. Diferentes autores mencionan que el estudio sobre componentes de alimentos que contribuyan a la calidad de la nutrición y beneficios en la salud puede permitir mejorar estrategias para desarrollar variedades con mayor calidad, al aumentar el valor nutricional y mejorar los beneficios en la salud (Xioali *et al.*, 2008; Tahir *et al.*, 2011; Beleggia *et al.*, 2013; Gangola *et al.*, 2013). Las síntesis de algunos estudios son los siguientes.

Gangola *et al.* (2013) en su trabajo proponen una estrategia de mejoramiento genético para modular los oligosacáridos de la familia de la rafinosa en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.), debido a que estos azúcares son indigestos en el humano y en animales monogástricos, provocando flatulencia y otros malestares estomacales, pese a ello, son beneficiosos para las bacterias intestinales que se consideran como prebióticos. En las plantas tienen un cierto papel fisiológico, por lo que en esta investigación se quiso encontrar la concentración adecuada de oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR), para reducir los contenidos sin afectar el desarrollo de las plantas y beneficiar la salud. El estudio reveló un impacto significativo en los análisis estadístico de G, A y GxA sobre la concentración de los OFR en las semillas, en genotipos de dos distintos tipos de garbanzo desi y kabuli, al igual encontraron una correlación positiva ($P \leq 0.001$) en rafinosa, estaquiosa y verbascosa.

En un estudio realizado a 19 cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) para determinar los contenidos de α -galactosidos por medio de HPLC, encontraron las condiciones óptimas para extraer OFR en semillas de garbanzo (50 % de etanol-agua como solvente de la proporción 10:1 de harina de garbanzo desengrasada, a 50 °C por 30 min.). Los resultados mostraron que los principales α -galactosidos fueron rafinosa, estaquiosa, verbascosa y ciceritol, aunque verbascosa solo fue detectado en 7 muestras

y ciceritol, fue el principal azúcar en todas las muestras analizadas abarcando 50 % del total de los OFR. Se encontró también, que existe variación en los niveles de sacarosa entre los cultivares, por lo que los resultados indicaron que la muestra 171 por contener niveles bajos de sacarosa y adecuados de OFR fue considerado un cultivar ideal para obtener α -galactosidos puros para el uso como ingredientes funcionales (Xioali *et al.*, 2008).

Tahir *et al.* (2011) trabajaron con genotipos seleccionados de lentejas donde evaluaron algunos aspectos de calidad, amilosa, proteína y componentes anti-nutricionales (OFR). Entre las correlaciones obtenidas ($P \leq 0.05$) se obtuvo una correlación positiva entre el peso de 1000 semillas, el total de OFR y la concentración de sacarosa, una correlación negativa entre la concentración del almidón y la proteína, sin embargo, mencionan que al no tener una correlación significativa entre OFR y otro rasgo de calidad, la selección de lentejas con valores menores de OFR no afectaría en un aspecto de calidad de la semilla. Respecto a la composición de α -galactosidos, si se hallaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) tanto en el total de los OFR (4.5 - 6.7 g 100 g⁻¹) como en el análisis individual, siendo estaquiosa (1.7 - 2.9 g 100 g⁻¹) el azúcar más predominante seguido de rafinosa (1.6 - 2.4 g 100 g⁻¹) y verbascosa (1.2 - 1.9 g 100 g⁻¹). En el Cuadro 1.14 se recopiló información de los datos de oligosacáridos obtenidos en estos estudios.

Cuadro 1.14 Contenido de oligosacáridos en leguminosas.

Muestra	Sac %	Raf %	Est%	Ver %	Fuente
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.)	1.80-5.22	0.46-0.92	1.60-3.10	0.27-0.70	Xioali <i>et al.</i> (2008).
Lentejas (<i>Lens culinaris</i> . Medik)	0.70-2.40	1.60-2.40	1.70-2.90	1.20-1.90	Tahir <i>et al.</i> (2011).
Garbanzo (<i>Cicer arietinum</i> L.)	0.60-2.93	0.09-1.19	0.18-2.36	0.01-0.13	Gangola <i>et al.</i> (2013).

Construcción propia: Sac; Sacarosa, Raf; Rafinosa, Est; Estaquiosa, Ver; Verbascosa.

La concentración de proteína en los diferente genotipos de lentejas variaron significativamente ($P \leq 0.05$) y tuvieron un rango de 23.8 - 29.3 g 100 g⁻¹. Se encontraron

diferencias en los contenidos de proteína entre dos tipos de color de lenteja, con una media de 26.1 g 100 g⁻¹ para la lenteja amarilla y de 26.8 g 100 g⁻¹ para la lenteja roja (Tahir *et al.*, 2011). Aun cuando sean de la misma especie hay una gran variabilidad en las cantidades de proteínas, pues también los contenidos van a depender de factores genéticos, climáticos y ecológicos (Gálvez *et al.*, 2006).

La información obtenida de Thair *et al.* (2011) podría ayudar a entender la relación entre diferentes parámetros de calidad y el desarrollo y la selección de nuevos cultivares de lentejas con contenidos adecuados de almidón, amilosa, proteína y bajos contenidos de OFR.

De acuerdo al estudio realizado por Wang y Morphy (1994) existe un efecto sobre la variedad, el año de cultivo y la localidad, en los contenidos de isoflavonas en semillas de soya americanas y japonesas. Con respecto a su investigación en el análisis realizado en tres años consecutivos (1989, 1990 y 1991) del cultivo de una sola variedad de semilla de soya, se encuentran diferencias altamente significativas en el total de isoflavonas y en las isoflavonas individuales analizadas. Mientras que en el estudio de tres diferentes localidades en un mismo año (1991), con la misma semilla de soya se detectó que la cantidad total o individual de isoflavonas no fue realmente influenciada por el crecimiento en las localidades, sino parecieron estar más influenciados por el año en que se cultivo.

En tres variedades japonesas de soya crecidas en una unidad experimental en el año 1991 y 1992, los datos mostraron variación en los contenidos de isoflavonas entre las variedades, encontrando que en el año 1992 el grupo constituía solo 60% de la cantidad de isoflavonas encontradas en el grupo de 1991, por lo que en estas variedades el año de cultivo parece afectar más la concentración de isoflavonas que la genética (Wang y Morphy, 1994).

Beleggia *et al.* (2013) demuestran en cuatro cultivares de trigo (*Triticum durum* Desf.), el efecto entre el G, A (donde considera el año y dos sistemas diferentes de cultivar, convencional y organico) y la interacción GxA sobre algunos metabolitos, incluyendo amino ácidos, azúcares, alcoholes de azúcares, ácidos orgánicos, fitoesteroles, tocoferoles y ácidos grasos. Para obtener una caracterización general y comprensiva de las muestras analizadas en su estudio, los mismos autores realizaron

un análisis de componentes principales (ACP) con los metabolitos detectados, donde se explica el efecto de la interacción GxA, gracias a los eigenvectores y al porcentaje de la varianza total explicada por cada componente principal (CP). Entre los tres CPs dio un total de 57.2 %, la posición adquirida de la muestra en el plano de tres dimensiones explico las características de las muestras de manera gráfica. Las muestras de trigo del año 2007 y 2008 fueron localizadas en el lado positivo del CP 1, mientras que del lado negativo se posicionaron las muestras del 2009, reflejando los contenidos bajos y altos de cada metabolito que fue correlacionado positivo o negativamente en el CP1. PC 2 permitió la diferenciación del sistema agronómico adoptado en el año 2009. Y el CP 3 proporciono información de los contenidos individuales del año 2007, independientemente del tratamiento considerado. Con este estudio se obtuvo una visión general de las interacciones que pueden ocurrir entre estos metabolitos, destacando los efectos del genotipo y las condiciones de crecimiento. Por lo que amplía el conocimiento de trigo, y proporciona una base para el desarrollo de variedades mejoradas con un mayor valor nutricional y beneficios para la salud.

El análisis de 12 isoflavonas y 9 antocianinas en cultivares de soya que fueron sembradas en tres lugares diferentes en Korea, muestran que la composición de estos dos metabolitos puede ser afectado por la zona y fecha de plantación, el genotipo y varios factores ambientales. Al igual mencionan que la temperatura durante la etapa del llenado de las vainas puede ser un factor ambiental importante que influye en el contenido de metabolitos secundarios (isoflavonas, antocianinas), pues se observó que con temperaturas bajas aumentan los contenidos de ambos metabolitos (Kim *et al.*, 2014). Así, el estudio documenta diferencias significativas en las tres localidades entre los contenidos de isoflavonas y antocianinas con el análisis de variedad (V) y localidad (L) y su interacción V x L. También utilizaron técnicas quimiométricas, CPs y el análisis de cuadrados discriminantes menos parcial (por sus siglas en inglés PLS-DA) para racionalizar la información de la descripción multivariada de un sistema biológico.

Lee *et al.* (2003) consideraron entre sus objetivos a estudiar; el efecto del genotipo, año de cultivo, sitio y su interacción sobre los contenidos de diferentes isoflavonas crecidas en ambientes Koreanos, al igual que conocer la relación entre las isoflavonas e identificar genotipos con contenidos altos de estos fitoquímicos. En su trabajo realizaron

un análisis bi-plot del genotipo por tablas rasgo (genotype-by-trait bi-plot) donde según los autores se puede entender y apreciar los resultados de una manera más fácil. Entre los genotipos se encontraron diferencias significativas; el genotipo Geomjeong 1 fue el que tuvo mayor contenido de isoflavonas y fue el más estable, también se obtuvo una alta correlación positiva entre genisteína y gliciteína y una correlación negativa entre daidzein y genistin. La diferencia que existió entre años (1998, 1999 y 2000) en contenidos de isoflavonas parece estar asociado con bajas temperaturas durante el desarrollo de la semilla.

6. Literatura citada

- Anderson, J. J. B., Antony, M. S. (1999). Health potential of soy isoflavonas for menopausal women. *Public Health Nutrition*, 2(4), 489-504.
- Alonso, B. O., Rovira, R. F., Vegas, C. A., Pedrosa, M. M. (2010). Papel de las leguminosas en la alimentación actual. *Actividad Dietética*, 14(2), 72-76.
- ASERCA, Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (2001), Claridades Agropecuarias Órgano Desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2116-102. México D.F. pp.1-4.
- Beleggia, R., Platani, C., Nigro F, De Vita, P., Cattielli, L., Papa, R. (2013). Effect of genotype, environment and genotype-by-environment interaction on metabolite profiling in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grain. *Journal of Cereal Science*, 57, 183-192.
- Benítez, V., Cantera, S., Aguilera, Y., Mollá, E., Esteban, R. M., Díaz, M. F., Martín-Cabrejas, M. A. (2013). Impact of germination on starch, dietary fiber and physicochemical properties in non-conventional legumes. *Food Research International*, 50, 64-69.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56 (11), 317-333.
- Boyer R. (2000). Aminoácidos, péptidos y proteínas. En R. Boyer (coord.), *Conceptos de bioquímica* (pp.78-79). México: International Thomson Editores.

- Burton, B. F. (2000). Dietary Fiber and Energy Regulation. *Journal of Nutrition*, 130, 272S–275S.
- Cartaya, O., Reynaldo, I. (2001). Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22 (2), 5-14.
- Cerning, J., Saposnik, A., Guilbot, A. (1975). Carbohydrate composition of horse beans (*Vicia faba*) of different origins. *Cereal Chemistry*, 52, 125-138.
- César, I., Braga, F., Soares, C., Nunan, E., Pianetti, G., Condessa, F., Barbosa, T., Campos, L. (2006). Development and validation of a RP-HPLC method for quantification of isoflavone aglycones in hydrolyzed soy dry extracts. *Journal of Chromatography B*, 836, 74-78.
- Chiang, W., Shih, C., Chu, Y. (2001) Optimization of acid hydrolysis conditions for total isoflavones analysis in soybean hypocotyls by using RSM. *Food Chemistry*, 72, 499-503.
- CONABIO, (2013a) Capítulo 3. Flora. Flora terrestre, leguminosas. *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad* Disponible en: www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/pdf/QuintanaRoo/Tomo_2/3_Capitulo_T2_baja.pdf (Octubre 2013). pp. 68-71.
- IFIC, (2014). En *Consejo internacional de Información sobre alimentos*. Consultada el 27 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.foodinsight.org/spanish/topics> .
- SIAP, (2014). Cierre de la producción agrícola por estado. En *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Consultada el 20 mayo de 2015. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Crittenden, R. G., Playne, M. J. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 353-361.
- Cubero, I. J. (1974) On the Evolution of *Vicia faba* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 45, 47-51.
- Cubero J, Moreno M, Nadal S, (2004) Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Ed. Mundi-Prensa. pp. 27-247.
- DeFelice, L. S. (1995). The nutraceutical revolution, its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 59-61.

- Dini, A., De Simone, F., Ramundo, E., Senatore, F. (1989). Oligosaccharides in five different *Vicia faba* L. Cultivars. *Biochemical Systematics and Ecology*, 17 (7/8), 559-561.
- Dixon, R. A., Paiva, N. L. (1995). Stress-Induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7, 1085-1097.
- Duc, G. (1997). Faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research*, 53, 99-109.
- Duncan, A. M., Phipps, W. R., Kurzer, M. S. (2003). Phyto-estrogenos. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 17(2), 253–271.
- Duranti, M., Gius, C. (1997). Legumes seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Research*, 53, 31- 45.
- Duranti, M. (2006). Review Grain legumes proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, H. A. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-productos of food processing; Characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chemistry*, 124, 411-421.
- Escudero, A. E., González, S. P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, (Supl.2), 61-72.
- EUFIC, (2014). En *European Food Information Council*. Consultada el 23 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.eufic.org/article/es/expid/basics-alimentos-funcionales/>
- FAO, (2006). Informe Nacional Sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la alimentación, México. En *Food and Agriculture Organization*. Consultada el 20 de noviembre de 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/mexico.pdf>
- FAO, (1970). Amino-acid content of foods and biological data on protein. En *Food and Agriculture Organization*. Consultada el 12 de septiembre 2015. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC>
- Frias, J., Vidal-Valverde, C., Kozłowska, H., Gorecki, R., Honke, J., Hedley, C. L. (1996). Evolution of soluble carbohydrates during the development of pea, faba bean and lupin seeds. *Z Lebensm Unters Forsh*, 203, 27-32.

- FOSHU, (2014). *Food for Specified Health Uses*. Consultada el 4 de octubre 2014.
Disponible en <http://www.mhlw.go.jp/english/topics/foodsafety/fhc/02.html>
- FIM, (2014). *Foundation for Innovation in Medicine*. Consultada el 4 de octubre de 2014.
Disponible en <http://www.fimdefelice.org/p2504.html>
- Gálvez, M. A., Flores, A. I., González, S. A. F. (2006). Proteínas. En S. Badui (coord.), *Química de los alimentos cuarta edición* (pp.121-122, 205–206, 222) México: Pearson educación.
- Gangola, M. P., Khedikar, Y. P., Gaur, P. M., Baga, M., Chibbar, R. N. (2013). Genotype and Growing Environment Interaction Shows a Positive Correlation between Substrates of Raffinose Family Oligosaccharides (RFO) Biosynthesis and Their Accumulation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61 (20), 4943-4952.
- Graham, T. (1991). Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soybean seedling tissues and in seed and root. *Plant Physiology*, 95, 594-603.
- Geil, P. B., Anderson, J. W. (1994). Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13, 549–558.
- Giczewska, A., Borowska, J. (2003). Nutritional value of broad bean seeds. Part 1: Starch and fiber. *Nahrung/Food*, 47(2), 95-97.
- Gil, H. A., Ruiz, L. M. D. (2010). *Tratado de nutrición: composición y calidad nutritiva de los alimentos*. Volumen 2. Editorial medica Panamericana. Madrid España. Pp 162 y 570
- Gil H A y Sánchez de Medina C F (2010) *Tratado de Nutrición. Tomo 1, Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. 2da Edición. Editorial Medica Panamericana. Madrid.
- Goff H D (2013) *Fibre-rich and wholegrain foods, improving quality*. Capitulo 15 fibre-enriched dairy products. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 237.
- Guía de Alimentos Funcionales, (2014). En: Consultada el 24 de octubre. Disponible en http://www.pulevasalud.com/ps/subcategoria.jsp?ID_CATEGORIA=101983

- Glencross, B. D., Boujard, T., Kaushik, S. J. (2002). Influence of oligosaccharides on the digestibility of lupin meals when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 219, 703-713.
- Goyoaga, C., Burbano, C., Cuadrado, C., Romero, C., Guillamón, E., Varela, A., Pedrosa, M. M., Muzquiz, M. (2011). Content and distribution of protein, sugars and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 391-397.
- Han I H, Baik B K (2006) Oligosaccharide content and composition of legumes and their reduction by soaking, cooking, ultrasound and high hydrostatic pressure. *Cereal Chemistry*, 83 (4): 428-433.
- Herrera-Cabrera BE, Díaz RR, González CF, A Delgado-Alvarado (2006) Diversidad Genética y valor agronómico de haba en la región central de México. Informe Técnico, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Colegio de Postgraduados - Campus Puebla. Puebla, México. pp. 96.
- Herrera-Cabrera, B. E., Miranda-Trejo, J., Delgado-Alvarado, A., (2011). Conocimiento tradicional y uso de la diversidad de haba. 2do Congreso del cultivo de haba. UACH. Texcoco, Edo de México. 27-29 de Octubre del 2011.
- Herrera, J., Alizaga, R., Guevara, E., Jiménez, V. (2006). *Germinación y crecimiento de la planta*. Editorial Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Pp 14-15.
- Hollmann, J., Themeier, H., Neese, U., Lindhauer, M. G. (2013). Dietary fibre fractions in cereal foods measured by a new integrated AOAC method. *Food Chemistry*, 140, 586-589.
- IARC, (2003). High fiber diet reduces colorectal cancer risk. En *International Agency for Research on Cancer*. Consultada el 13 de febrero de 2015. Disponible en <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2003/pr146.html>
- ICAMEX, (2007). Usos Alternativos del cultivo de haba. En *Instituto de investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México*. Consultada el 2 de agosto de 2015. Disponible en: http://portal2.edomex.gob.mx/icamex/investigacion_publicaciones/horticola/haba/grupos/public/documents/edomex_archivo/icamex_arc_revhaba.pdf

- ICAMEX, (2009). Tecnologías de producción del cultivo de haba. *Instituto de investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México* MC. Mario López Rodríguez. Consultada en agosto 2015. Disponible en: http://portal2.edomex.gob.mx/icamex/investigacion_publicaciones/horticola/haba/index.htm
- INTA, (2007). ¿Qué son los alimentos funcionales?. En *Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos*. Consultada el 28 de octubre de 2014. Disponible En: <http://www.inta.cl/consumidores/index.php/articulos/alimentos-funcionales>
- IFIC, (2014) Temas. Ingredientes y nutrimentos. Hoja de datos de alimentos funcionales. En *International Food Information Council Foundation*. Consultada el 28 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.foodinsight.org/spanish/topics>
- ITIS, (2015). Información taxonomica. En *Integrated, Taxonomic Information System*. Consultada el 14 de agosto de 2015. Disponible en http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=26339
- Jack, D. B., (1995). Keep taking the tomatoes - the exciting world of nutraceuticals. *Molecular Medicine Today*, 1(3), 118-121.
- Jung, W., Yu, O., Lau, S. M., O'keefe D. P., Odell, J., Fader, G., McGonigle, B. (2000) Identification and expression of isoflavone synthase, the key enzyme for biosynthesis of isoflavones in legumes. *Nature biotechnology*, 18, 208- 212.
- Kalra, E. K. (2003). Nutraceutical-definition and introduction. *American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSci*, 5, 2-3.
- Kaufman, P. B., Duke, J. A., Brielmann, H., Boik, J., Hoyt, J. E. (1997). A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 3 (1), 7-12.
- Kim, E., Lee, O., Kim, J., Kim, S., Lee, J., Kim, S., Chung, I. (2014). Isoflavones and anthocyanins analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) from three different planting locations in Korea. *Field Crops Research*, 156, 76-83.

- Kudou, S., Fleury, Y., Welt, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K. (1991). Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill). *Agricultural Biological Chemistry*, 55(9), 2227-2233.
- Lampe, J. W. (2009). Is equol the key to the efficacy of soy foods?. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89 (suppl), 1664S–1667S
- Lee, S., Yan, W., Ahn, J. K., Chun, I. M. (2003). Effects of year, site, genotype and their interactions on various soybean isoflavones. *Field Crops Research*, 81, 181-192.
- Leterme, P. (2002). Recommendations by health organizations for pulse consumption. *British Journal of Nutrition*, 88 (Suppl. 3), S239–S242.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M. (2005), *Legumes of the world*. The Royal Botanic Garden, Kew, Londres. p. 577.
- Lowell, C. A., Kuo, T. M. (1989). Oligosaccharides metabolism and accumulation in developing soybean seeds. *Crop Science*, 2, 459–465.
- Ludueña, B., Mastandrea, C., Chichizola, C., Franconi, M. C. (2007). Isoflavonas en soja, contenido de daidzeína y genisteína y su importancia biológica. *Bioquímica y Patología Clínica*, 71(1), 54-66.
- Luthria, D. L., Natarajan, S. S. (2009). Influence of sample preparation on the assay of isoflavonas. *Planta Medica*, 75, 704-710.
- Maarten, J. C., Sadava, D. E. (1994). Plants and Human Nutrition. En J. C. Maarten, D. E. Sadava (coord.), *Plants Genes and Agricultures* (Pp 93-96). England: Jones and Bartlett Publishers.
- Macarulla, J. M., Goñi, F. M. (1994). Proteínas. En J. M. Macarulla, F.m. Goñi (coord.), *Bioquímica Humana, curso básico* (p 100). Barcelona: Reverté.
- Madar Z, Estark AH (2002) New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition* 88: Supplement 3:s287-s292.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2005). Rafinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars. *Food Chemistry*, 91, 645-649.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2008). Alpha-Galactosides: Antinutritional Factor or Functional Ingredients?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 301-316.

- Mazur, W., Adlercreutz, H. (1998). Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment. Naturally occurring oestrogens in food. *Pure & Applied Chemistry*, 70 (9), 1759-1776.
- Messina, M. J. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *American Journal Clinical Nutrition*, 70, 439S–50S.
- Meuser, F. (2001). Technological aspects of dietary fibre. In B. V. McCleary & L. Prosky (Eds.), *Advanced dietary fibre technology* (pp. 248–269). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Meyer, P. D. (2004). Nondigestible Oligosaccharides as Dietary Fiber. *Journal of AOAC International*, 87(3), 718-726.
- Mitchell, H. H., Block, R. (1946). Some relationships between the amino acid contents of proteins and their nutritive values for the rat. *Journal Biology Chemical*, 163, 599-620.
- Moltó, J. C. (2006). Proteínas. En J. M. Soriano del Castillo, *Nutrición básica humana* (págs. 106-107). España: Universidad de Valencia.
- Murkies, A. L., Wilcox, G., Davis, S. R. (1998). Phytoestrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(2), 297-303.
- Mussatto, S. I., Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-597.
- Muzquiz, M., Rey, C., Cuadrado, C. (1992). Effect of germination on the oligosaccharide content of lupin species. *Journal of Chromatography*, 607, 349-352.
- Nadal M S, Moreno Y M T, Cubero S J I (2004) *Las leguminosas grano en la agricultura moderna*. Mundi Prensa. Madrid, España. pp. 213,214.
- Nalle, C. L, Ravindran, V., Ravindran, G. (2010). Nutritional value of faba beans (*Vicia faba* L.) for broilers: Apparent metabolisable energy, ileal amino acid digestibility and production performance. *Animal Feed Science and Technology*, 156, 104-111.
- Nishizawa, A., Yabuta, Y., Shigeoka, S. (2008). Galactinoland raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. *Journal of Plant Physiology*, 147, 1251-1263.
- Pérez, L. D. J., González, H., A. (2003). *Cultivo y Mejoramiento de Haba*, México: Universidad Autónoma del Estado de México. pp 24 y 26.

- Peterbauer, T., Lahuta, L. B., Blöchl, Mucha, J., Jones, D. A., Hedley, C. L., Górecki, R. J., Richter, A. (2001). Analysis of the Raffinose Family Oligosaccharide Pathway. *American Society of Plant Biologists, Plant Physiology*, 127, 1764–1772.
- Rodríguez, R., Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 3-15.
- Roberfroid, M. B. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal Nutrition*, 80, S197–S202.
- Roberfroid, M. B. (1996). Functional effects of food components and the gastrointestinal system: Chicory fructooligosaccharides. *Nutrition Reviews*, 54 (11), S38-S42.
- Ross, J. A., Kasum, C. M. (2002). Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*, 22, 19-34.
- Sanders, M. E. (1998). Overview of Functional Foods: Emphasis on Probiotic Bacteria. *International Dairy Journal*, 8, 341-347.
- Saviranta, N. M.M., Anttonen, M., J., Wright, A., Karjalainen, R. O. (2008). Red clover (*Trifolium pratense* L.) isoflavones: determination of concentrations by plant stage, flower colour, plant part and cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88, 125-132.
- Setchell, K. D. R., Cassidy, A. (1999). Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *American Society for Nutritional Sciences*, 129 (3), 758S- 767S.
- Shahidi, F. (2005). Nutraceuticals and Functional Foods in Health Promotion and Disease Prevention. Department of Biochemistry. Memorial University of Newfoundland. *Traditional Medicine & Nutraceuticals*, 6,13-24.
- SIAP, (2014). Cierre de la producción agrícola por estado. En *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Consultada el 20 mayo de 2015. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Singh, N., Kaur, M., Sandhu, K. S., Sodhi, N. S. (2004). Physicochemical, cooking and textural characteristics of some Indian black gram (*Phaseolus mungo* L) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 977-982.

- Suárez, L. M. M., Kizlansky, A., López, B. L. (2006). Evaluación de la calidad de las proteínas en los alimentos calculando el escore de aminoácidos corregido por digestibilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 21(1), 47-51.
- Swennen, K., Courtin, C.M., Delcour, J. A. (2006). Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 459–471.
- SENC, (2014). *Sociedad Española de Nutrición Comunitaria*. Consultada el 13 de octubre de 2014. Disponible en http://www.5aldia.org/v_5aldia/informacion/informacionver.asp?cod=271&te=189&idage=1065
- Tahir, M., Lindeboom, N., Baga, M., Vandenberg, A., Chibbar, R. N. (2011). Composition and correlation between major seed constituents in selected lentil (*Lens culinaris*. Medik) genotypes. *Canadian Journals of Plant Science*, 91, 825-835.
- Tajoddin, M., Manohar, S., Lalitha, J. (2012). Laboratory experiments illustrating evaluation of Raffinose family oligosaccharides of mung bean (*Phaseolus aureus* L.) cultivars. *Indian Journal of Innovations and Developments*, 1(5), 390-394.
- Tharanathan, R. N., Mahadevamma, S. (2003). Grain legumes a boon to human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 507-5018.
- Trinidad, T. P., Millillin, A. C., Loyola, A. S., Sagum, R. S., Encabo, R. R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fiber. *British Journal of Nutrition*, 103, 569-574.
- Tosh, M. T., Yada, S. (2010). Dietary fibres, in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43, 450-460.
- Tungland, B. C., Meyer, D. (2002). Nondigestible Oligo- and polysaccharides (dietary fiber): their physiology and role in human health and food. Comprehensive reviews in food science and food safety. *Institute of Food Technologists*, 3, 90-109.
- Valdés, M. S. E. (2006). Hidratos de carbono. En S. Badui (coord.), *Química de los alimentos cuarta edición* (pp.54-55, 107-108) México: Pearson educación.
- Valls, J., Millán, S., Martí, M. P., Borràs, E., Arola, L. (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavonas and flavanols. *Journal of Chromatography A*, 1216, 7145-7172.

- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sotomayor, C., Díaz-Pollan, C., Fernandez, M., Urbano, G. (1998). Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 207, 140-145.
- Vioque, J., Alaiz, M., Girón-Calle, J. (2012). Nutritional and functional properties of Vicia faba protein isolates and related fractions. *Food Chemistry*, 132, 67–72.
- Wang, H., Murphy, P. A. (1994a). Isoflavone content in commercial soybean foods. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 42, 1666-1673.
- Wang, H., Murphy, P. A. (1994b). Isoflavone Composition of American and Japanese Soybeans in Iowa: Effects of Variety, Crop Year, and Location. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 42, 1674-1677.
- Xioali, X., Liyi, Y., Shuang, H., Wei, Li., Yi, S., Hao, M., Jusong, Z., Xiaoxiong, Z. (2008). Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 111, 215-219.
- Yuan, D., Chen, Y., Bai, X., Pan, Y., Kano, Y. (2006). TLC and HPLC Analysis of Soy Isoflavones in Semen Sojae Praeparatum. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 1, 3-4.
- Yu, O., Jung, W., Shi, J., Croes, R. A., Fader, G. M., McGonigle, B., Odell, J. T. (2000). Production of the isoflavones genistein and daidzein in non-legume dicot and monocot tissues. *Plant Physiology*, 124, 781-793.
- Zohary, D., Hopf, M. (2000). *Domestication of Plants in the Old World*, third edition. Oxford: University Press. Pp 93.

CAPITULO II. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS NUTRICIONALES Y FUNCIONALES EN COLECTAS DE HABA (*Vicia faba* L.) Y SUS EFECTOS POR EL AMBIENTE, AÑO DE COLECTA, GENOTIPO Y LA INTERACCIÓN GENOTIPO-AMBIENTE

2.1 Introducción

Las leguminosas son conocidas y consumidas en todo el mundo por ser un alimento rico en proteínas (Duranti y Gius, 1997; Singh *et al.*, 2004). Sin embargo, no es el único aporte que proveen, también contienen otros componentes que las convierte en alimentos ideales para cumplir con las recomendaciones dietéticas diarias (Madar y Stark, 2002). Desde hace algunos años las leguminosas son consideradas alimentos funcionales, tienen efectos terapéuticos que pueden ayudar a disminuir el riesgo de contraer enfermedades crónico degenerativas (Duranti 2006; Trinidad *et al.*, 2010; Geil y Anderson 2013). Lo que ha aumentado el interés de los investigadores por estudiarlas.

Algunos de los componentes nutritivos y/o funcionales que provee el haba, incluyen: *proteínas* que tienen un papel fundamental en tejidos, enzimas, como componentes estructurales de las células y como reguladores de funciones en el organismo, etc. (Maarten y Sadava, 1994); *fibra dietética*, constituida por componentes que no son digeridos en el organismo, pero generan beneficios asociados con enfermedades del aparato digestivo (Tosh y Yada, 2010); *oligosacáridos*, los cuales a pesar de que causan gases intestinales (flatulencia), son prebióticos para algunos microorganismos en la flora intestinal, ayudan a mejorarla y a su vez desencadenan una serie de funciones fisiológicas saludables para el cuerpo (Mussatto y Mancilha 2007); *isoflavonas*, metabolitos que actúan como fitoestrógenos, protegiendo al organismo de contraer enfermedades como ciertos tipos de cáncer, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares y disminuyen los síntomas causados en el climaterio de la mujer (Patisaul y Jefferson, 2010). Aunque las isoflavonas son principalmente estudiadas en soya o en productos derivados de la misma (Wang y Murphy, 1994a), se ha encontrado en diferentes tejidos de plantas de leguminosas, como en el tallo de haba, ciertos metabolitos como genisteína y daidzeína (Kaufman *et al.*, 1997).

Vicia faba L. no es una especie nativa, sin embargo, existe una amplia variabilidad genética que posiciona como segundo centro de diversidad a México (FAO, 2006), en donde se cuenta con una mayor producción en la zona central, en los denominados Valles Altos (Herrera-Cabrera *et al.*, 2006). El haba ha sido escasamente evaluada en componentes nutrimentales y/o funcionales, además, se desconoce los efectos que puede tener el genotipo, el ambiente y el año de cosecha. Algunos estudios indican que los componentes de leguminosas no se mantienen constantes, sino dependen de diferentes factores. Kim *et al.* (2014) mencionan que el ambiente tuvo una influencia significativa en el contenido de isoflavonas en dos cultivares de soya; mientras que en garbanzo, la concentración de oligosacáridos de la familia de la rafinosa, se afecta significativamente por el efecto genotipo (Gangola *et al.*, 2013).

En México, es muy limitada la información que documenta sobre la concentración de los componentes nutritivos y/o funcionales que tiene el haba, mientras que en otros países se dispone de mayor información. El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración de proteína total, aminoácidos solubles totales, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética total de colectas de haba provenientes de los principales estados productores de México, considerando el efecto del ambiente, año de colecta y genotipo, para identificar colectas con las mejores características para consumo humano, tanto nutritivas como funcionales, y diferenciarlas para potenciar los atributos en las que sean sobresalientes.









2.2 Materiales y métodos

Material vegetal

Con base en los estudios previos realizados en *Vicia faba* L., desde el año 2000 en el área de fitomejoramiento del Campus Puebla del Colegio de Postgraduados, se seleccionaron colectas de haba pertenecientes a localidades de los tres principales estados productores en México; Puebla, Estado de México y Tlaxcala. De aproximadamente 300 colectas de haba se inició una selección con base, en las preferencias del productor, algunas variables agronómicas y compuestos nutricionales y anti-nutricionales. De ésta selección se redujo a 32 colectas, de las cuales ocho han resultado ser las más sobresalientes tanto en rendimiento, resistencia a enfermedades,

como en la composición química del grano (Herrera-Cabrera *et al.*, 2006). En esta investigación se trabajó con ocho colectas para conocer sus componentes nutricionales y/o funcionales y los efectos que tienen ciertos factores en sus contenidos. En el Cuadro 2.1 se observan las colectas con las que se llevó a cabo el estudio, su procedencia y la clasificación de acuerdo a Herrera *et al.* (2011).

Cuadro 2.1. Colectas de haba pertenecientes a los principales estados productores de México.

Colecta	Origen	Estado	Clasificación*
 Col-Zac22	Ixtacuitla	Tlaxcala	Cochinera verde
 Col-160	Cd. Serdán	Puebla	Cochinera blanca
 Col-89	San Salvador el Seco	Puebla	Tarragona amarilla
 Col-181	Tlachichuca	Puebla	Tarragona parraleña
 Col-93	San Salvador el Seco	Puebla	Tarragona amarilla
 Col-146	Cd. Serdán	Puebla	Cochinera morada
 Col-288	Juchitepec	Edo. de México	Tarragona amarilla
 Col-281	Ocoyoacac	Edo. de México	Tarragona amarilla

*Clasificación de la semilla de haba de acuerdo a Herrera *et al.* (2011).

Las colectas de haba fueron cultivadas en condiciones de campo, bajo las labores de cultivo de la región. Se colectaron las semillas secas maduras de vainas con desarrollo normal de las tres primeras ramas basales, mismas que se obtuvieron desde septiembre hasta noviembre en los diferentes años, dependiendo de la precocidad de las colectas. Se utilizaron 300 g de semillas de cada colecta y se almacenaron en bolsas de papel en un lugar fresco para realizar los diferentes análisis.

Evaluación del efecto de ambiente, año de cosecha y genotipo/ambiente

Se utilizaron ocho colectas de haba, que fueron sembradas y evaluadas en los municipios productores de haba de Tlachichuca y Chalchicomula de Sesma (Ciudad Serdán) en el estado de Puebla (Figura 2.1).



Figura 2.1 Municipios donde se realizaron las siembras de las ocho colectas de haba.

El cultivo de las colectas de haba, se efectuó bajo las condiciones tradicionales que los agricultores realizan. Los diseños experimentales utilizados para evaluar el: *factor ambiente (FA)*, *factor año de cosecha (FAC)* y *factor genotipo/ambiente (FGA)*, fueron bloques completos al azar.

Para el estudio del factor ambiente, se evaluaron las colectas 181 y 89 y se sembraron en las localidades de Zoapan y Tlachichuca en el municipio de Tlachichuca, Puebla. Este diseño experimental representa dos ambientes diferentes (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2 Evaluación de dos colectas de haba en dos ambientes en el Municipio de Tlachichuca Puebla.

Colecta	Zoapan	Tlachichuca
C-89	√	√
C-181	√	√

Para el estudio de factor año de cosecha se evaluó la colecta 181 y se sembró en tres años diferentes 2006, 2011 y 2012 en la comunidad de San Cayetano municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3 Evaluación de una colecta de haba en tres años diferentes municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.

Colecta	San Cayetano		
	2006	2011	2012
C-181	√	√	√

Para el estudio del factor genotipo por ambiente, se analizaron siete colectas sembradas en las localidades de Tlachichuca y San Cayetano (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4 Evaluación de siete colectas de haba sembradas en dos localidades Tlachichuca y San Cayetano.

Colecta	Tlachichuca	San Cayetano
C-181	√	√
C-146	√	√
C-93	√	√
C-160	√	√
C-281	√	√
C-288	√	√
C-Zac22	√	√

Ambientes

A fin de mostrar que en los estudios del factor ambiente y del factor genotipo por ambientes, las localidades de Zoapan y Tlachichuca para el primero, y Tlachichuca y San Cayetano para el segundo, son diferentes. Se realizó un análisis de conglomerados de las dos localidades a evaluar por factor de estudio, con las principales variables ambientales, las cuales fueron tomadas del portal de geoinformación de CONABIO (2012).

El primer cluster, ilustra a los ambientes de Tlachichuca y Zoapan, en él se observa que la mayoría de las variables son diferentes entre las dos localidades (Figura 2.2), y solo son iguales la precipitación del mes más seco y el tipo de suelo. Por lo que en función de la distancia media entre conglomerados, alrededor de 1.0, los ambientes son diferentes.

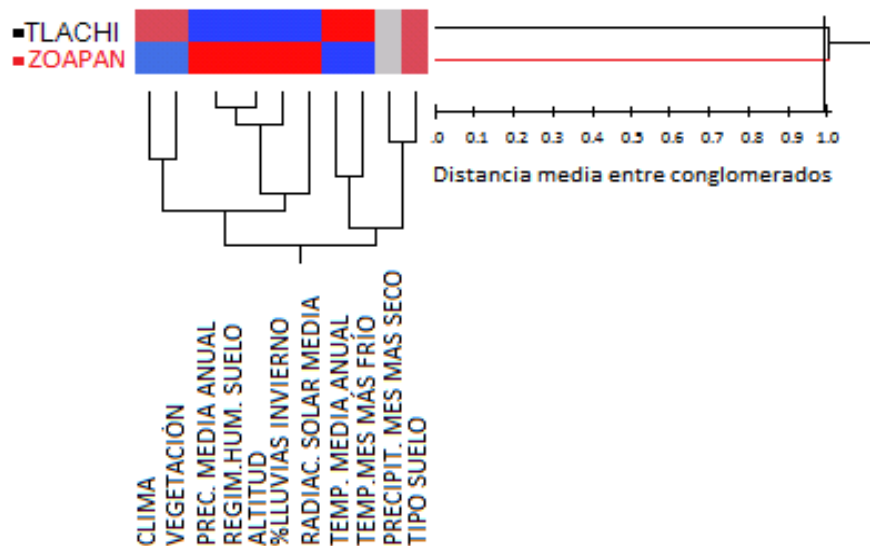


Figura 2.2 Dendrograma de variables ambientales de las localidades de Tlachichuca y Zoapan pertenecientes al municipio de Tlachichuca, Puebla. Tomado de Salamanca (2016).

El clúster que ilustra a los ambientes de Tlachichuca y San Cayetano (Figura 2.3), muestra que la mayoría de las variables (6 de 11) son diferentes entre las dos

localidades, y cinco son iguales. Por lo que en función de las distancia media entre conglomerados, alrededor de 1.0 los ambientes son diferentes.

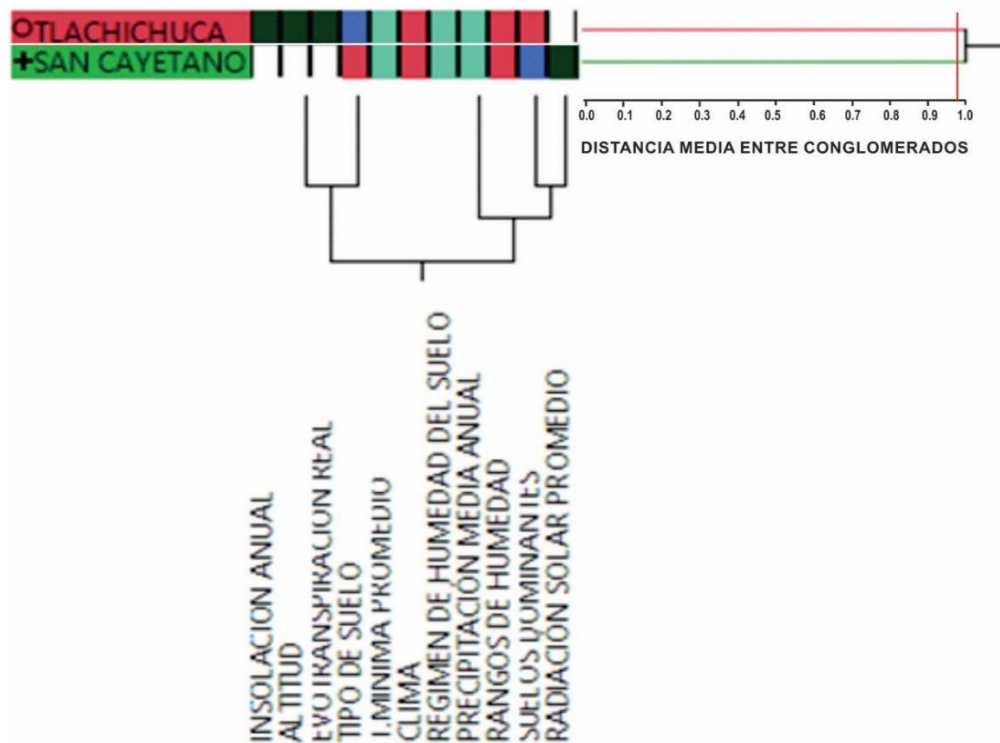


Figura 2.3 Dendrograma de variables ambientales de las localidades de Tlachichuca y Ciudad Serdán (San Cayetano) pertenecientes a los municipios de Tlachichuca y Chalchicomula de Sesma.

Análisis nutricionales y/o-funcionales

Se utilizó harina de haba para los análisis de proteína total (PT), aminoácidos solubles totales (AAST), fibra dietética total (FDT) y oligosacáridos (OLIG) y para el análisis de las isoflavonas (IFs) se utilizaron los tallos de las colectas de haba.

Harina de haba

Se tomaron 300 g de haba por cada colecta y se descascararon (eliminación de la testa). Posteriormente los cotiledones de cada colecta se molieron por separado en una licuadora (Oster, 465-13), y se tamizaron con una malla de 500 μ (Montinox) para tener una harina de 0.5 mm de tamaño de partícula (Figura 2.4).



Figura 2.4 Obtención de harina de haba: a)descascarado de la semilla de haba, b) molido de la semilla y c) tamizado de la harina.

Harina de haba desgrasada

Para los análisis de AAST y FDT se utilizó harina desgrasada. El desgrasado de la muestra se efectuó con el método de Soxhlet de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-F-089-S-1978), con algunas modificaciones. Se pesaron 10 g de harina de haba, que se colocaron en un cartucho de papel filtro de celulosa (Whatman, 609) de 15 x 20 cm. Los cartuchos fueron puestos en el contenedor Soxhlet (Tecni-Lab, Vari-Heat-6U), se les agregó 100 mL de hexano (J.T.Baker, 9309-03), la temperatura se ajustó a 60 °C y el equipo recirculó durante 6 horas.

Análisis de proteína total (PT)

El análisis de PT se realizó por el método de Kjeldahl de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-F-068-S-1980), con algunas modificaciones para una mejor determinación. La metodología habitual para determinar el contenido de nitrógeno que a su vez estima el contenido de PT en alimentos, por el método de Kjeldahl, el cual, se encuentra integrada por las etapas; digestión, destilación y titulación. Se agregaron 40 mg de harina de haba en tubos Kjeldahl, 0.8 g de mezcla digestora de selenio (Merck, 1.08030.1000) y 3.5 mL ácido sulfúrico concentrado (J. T. Baker, 9681-05). Se taparon los tubos con la trampa de vapores (Lavador de gases, Prendo, LG-01), la cual se encuentra conectada a un frasco con solución de NaOH 1N (MACRON, 7708-10) para neutralizar los gases obtenidos de la reacción. Se fijó la temperatura del digestor Kjeldahl

(Prendo, Dik-20) a 350 °C y se efectuó la digestión en aproximadamente 2 h. Posteriormente se retiraron los tubos del digestor y se colocaron en una campana de extracción hasta que la temperatura disminuyó sin dejar que la muestra que reacciono adquiriera una apariencia gelatinosa. Se le agregaron a cada tubo 12 mL de agua para disolver la muestra. Posteriormente los tubos se colocaron en el destilador y se encendió el equipo a máxima temperatura. A los tubos se les suministró 10 mL de NaOH a 50 % para liberar el amoníaco de la muestra que reaccionó. Por otro lado en una probeta se adicionaron 5 mL de ácido bórico a 4 % y 3 gotas de solución indicadora Tashiro Shiro. Esta probeta fue colocada en la salida del refrigerante del destilador para la recolección de todo el NH₃ (25 mL). Por último se retiró la muestra de la probeta (solución de color verde) y se depositó en un matraz Erlenmeyer para continuar con la titulación con HCl a 0.1 N (J. T. Baker, 9535-02). La titulación fue realizada con precaución procurando que el HCl cayera gota por gota hasta el vire de color verde a rosa morado. Se registraron los mililitros gastados de HCl para obtener el porcentaje de nitrógeno presente en la muestra (Ecuación 1). Para obtener el porcentaje de PT se multiplicó el factor de proteína (6.25) por el porcentaje de nitrógeno obtenido de la muestra (Ecuación 2). Esta determinación se llevó a cabo por triplicado.

Ecuación 1. % Nitrógeno = $(V \times N \times 0.014 \times 6.25 \times 100) / M$

En donde:

V = Volumen de HCl empleado en la titulación, en cm³

N = Normalidad del ácido clorhídrico

M = Masa de la muestra en gramos

0.014 = Miliequivalente del N₂

Ecuación 2. % de Proteína = (% de Nitrógeno x 6.25)

Análisis de aminoácidos solubles totales (AAST)

Este análisis se llevó a cabo por el método de ninhidrina, que al reaccionar con la muestra alimenticia (la ninhidrina descarboxila y desamina al aminoácido por oxidación) colorea a los aminoácidos presentes (coloración violeta) que pueden ser cuantificables en espectrofotometría UV-Visible (Nielsen, 1998; Teijón *et al.*, 2005). La metodología

utilizada fue de acuerdo a Lee y Takahashi (1966) con algunas modificaciones para una mejor determinación. Se pesaron 50 mg de harina de haba desgrasada y se disolvieron en 1 mL de ácido sulfosalicílico a 2 % p/v (MERCK, 8601587). Se centrifugó (Hettich, MIKRO 200R) a 10 000 g durante 5 minutos, se extrajo el sobrenadante y se colocó en tubos a los cuales se le adicionaron 0.5 mL de solución amortiguadora de acetato de cianidina. La mezcla se introdujo en un baño de agua a 100°C durante 20 minutos (Shel Lab, WS17) y posteriormente los tubos se enfriaron. Una vez fríos los tubos se les añadió 5 mL de isopropanol a 50 % (J.T. Baker, 9084-03) y se dejaron reposar por 10 min. Posteriormente se determinó la absorbancia a 570 nm en un espectrofotómetro UV - visible (Thermo, Evolution 300). Para la curva de calibración se empleó glutamina como aminoácido de referencia. Se preparó un stock de concentración de 5 mg mL⁻¹ (25 mg de glutamina en 5 mL de ácido sulfosalicílico a 3 % p/v) (Cuadro 2.1A, ver anexo). Posteriormente se determinó la absorbancia a 570 nm. Se obtuvo una curva estándar ($y = 0.012x - 0.042$; $R^2 = 0.984$). (Figura 2.1A, ver anexo). Esta determinación se llevó a cabo por triplicado.

Análisis de fibra dietética total (FDT)

La determinación de FDT se llevó a cabo con el Kit TDF (SIGMA, TDF100A) basado en el método publicado en la edición 16 de los métodos oficiales de análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 1997), con ciertas modificaciones para una mejor adaptación al procedimiento. Este ensayo determina la FDT de los alimentos mediante la combinación de métodos enzimáticos y gravimétricos.

Por cada colecta de haba se pesaron 2 muestras de 1g de harina desgrasada, que representaron una repetición. Cada muestra fue colocada en vasos de precipitado de 500 mL y se les agregó 50 mL de buffer de fosfato 0.08 M pH 6 (combinación de buffer de fosfatos monobásico (J.T. Baker, 3246) y dibásico (J. T. Baker, 3252) y 100 µL de la enzima *α-amilasa* (SIGMA, A3306). Se cubrieron los vasos de precipitado con aluminio y se incubaron en un baño de agua a 95 °C (Aqua Bath, 18005A), durante 15 min con agitación suave cada 5 min. Después de que las muestras estuvieron a temperatura ambiente (TA), se verificó el pH con un potenciómetro (HANNA, pH 211) y se ajustó a pH 7.5 con NaOH 0.550 N, posteriormente se agregaron 100 µL de *proteasa* (SIGMA,

P3910) para la eliminación de la proteína en la muestra. Esta enzima tiene que prepararse inmediatamente antes de agregarse a la muestra (se necesitan 5 mg de proteasa por vaso, por lo que se preparó una solución de 5 mg de proteasa en 100 μ L de buffer de fosfato). En este paso se utilizó un baño de agua a 60 °C (Shel Lab, WS17) con agitación constante durante 30 min. Después los vasos se sacaron del baño y a temperatura ambiente se les verificó el pH y se ajustó a pH 4.3 con HCl 0.650 M (J. T. Baker, 9535-02), para agregar 100 μ L de enzima α -amiloglucosidasa (SIGMA, A9913), la cual elimina el almidón presente. Para su activación, se requirió nuevamente de incubación con baño de agua (Shel Lab, WS17) a 60 °C con movimiento constante durante 30 min. Por último se añadieron 4 volúmenes de etanol a 96 % y se dejó 24 h hasta que la fibra dietética soluble precipitara. Por otro lado se utilizaron filtros de microfibra de vidrio de 90 mm de diámetro (Whatman, 1827), estos fueron pesados y secados hasta obtener peso constante (w_1). El filtro de microfibra de vidrio ya seco se colocó en un matraz con filtro kitasato. Después de la precipitación el residuo se filtró al vacío y se lavó con 60 mL de etanol a 78 %, 20 mL de etanol a 96 % y 20 mL de acetona a 100 %. El residuo depositado en el papel filtro, se colocó en caja petri y se puso en la estufa a 90 °C durante 24 h. Al siguiente día se tomaron los pesos de los filtros con la muestra (w_2). Uno de los residuos de las muestras (filtro 1) se analizó para determinar proteína y el otro residuo (filtro 2) se incineró para la determinación de cenizas. Proteína se realizó por el método de Kjeldahl de acuerdo a la Norma Mexicana (NMX-F-068-S-1980) con algunas modificaciones para un mejor análisis. Para el análisis de cenizas el filtro se colocó en un crisol a peso constante y se incinero en una mufla durante 5 h a 525 °C, después el crisol fue colocado en un desecador y se pesó el filtro (w_3). Una vez de haber llevado a cabo todo el proceso, se siguió con la aplicación de las Ecuación 3, 4, 5 y 6 para la obtención de FDT. Los pasos a seguir se detallan en la Figura 2.2A y 2.3A, del anexo. Esta determinación se llevó a cabo por cuadruplicado.

Ecuación 3. Peso del residuo = $W_2 - W_1$

Ecuación 4. $\text{Peso cenizas} = W_3 - W_1$

En donde:

W_1 = Peso de filtro seco

W_2 = Peso de muestra en filtro

W_3 = Peso de filtro después de incinerado

Ecuación 5. $B = R \text{ blanco} - P \text{ blanco} - A \text{ blanco}$

Ecuación 6. $\% \text{ TDF} = [(R \text{ muestra} - P \text{ muestra} - A \text{ muestra} - B) / SW] \times 100$

En donde:

TDF = Fibra dietética total

R = Peso promedio de residuo (mg)

P = Peso promedio de proteína (mg)

A = Peso promedio cenizas (mg)

SW = Peso promedio de muestra (mg)

Análisis de oligosacáridos (OLIG)

Extracción. A 2 g de harina de haba se le agregaron 10 mL de solución extractora (1:1 etanol - agua, ambos grado HPLC). La mezcla se homogenizó con una parrilla de agitación durante 30 min a temperatura ambiente. Con ayuda de un embudo y una torunda de algodón se filtró la mezcla. Este extracto se pasó por cartuchos de extracción de fase sólida (SPE) de octadecilo (Chromabond, C18ec) para eliminar compuestos no deseados. El cartucho de limpieza se colocó en un soporte y se adicionaron 5 mL de metanol grado HPLC (J. T. Baker, 9093) para acondicionar la columna, seguido de 5 mL de agua grado HPLC (J.T. Baker, 4218), posteriormente se agregaron 2 mL del extracto y se eliminaron los primeros 0.5 mL, el resto se colectó para ser filtrado por un acrodisco 0.45 μm (PALL, 4556T). Se obtuvo aproximadamente 1 mL del extracto filtrado y se depositó en un vial para su posterior lectura en el cromatógrafo (Figura 2.4A, ver anexo).

Condiciones del equipo. Fueron semejantes a las utilizadas por Muzquiz *et al.* (1992) con algunas modificaciones. Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución HPLC (Perkin Elmer, 200a) con detector de índice de refracción (IR) y una columna Varian Micropak NH₂-10 (4 mm I.D., 0.25 in O.D., 300 mm de longitud, tamaño de

partícula de 10 μ). La fase móvil que se ocupó fue de 70:30 acetonitrilo-agua, ambos grado HPLC, a una temperatura de horno y de IR a 40 °C, flujo de corrida de 1 mL min⁻¹ y el volumen de inyección 10 μ L. En la Figura 2.5A del anexo se muestra un cromatograma obtenido de una corrida.

Curva de calibración. Con ayuda de un pesa sustancias se pesaron 0.05 g de estándares sacarosa (Sigma, S7903), rafinosa (Sigma, R0250) y estaquiosa (Sigma, S4001) y se disolvieron en 10 mL de una solución 1:9 metanol:agua (5mg·mL⁻¹). El estándar de verbascosa (Fluka, 56217) se disolvió en 1 mL de 1:9 metanol:agua para tener la misma concentración que los estándares anteriores (5mg·mL⁻¹). El estándar de verbascosa se trabajó por separado dada la poca cantidad de la misma, obteniendo sólo una mezcla de 3 puntos de la curva (1, 2 y 5 mg mL⁻¹) Cuadro 2.2A y Figura 2.6A, ver anexo.

Tallo de haba

La obtención de los tallos se realizó a través de plántulas de haba crecidas en condiciones de invernadero durante un mes. Se realizaron dos siembras, de la primera siembra se utilizaron los tallos para los análisis de detección de la presencia de daidzeína y genisteína por medio de cromatografía en capa fina (CCF) y de la segunda siembra se utilizaron los tallos para cuantificar las mismas isoflavonas por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Primera siembra de colectas de haba. En el periodo de febrero-marzo del 2014 se sembraron las colectas en invernadero para la obtención de tallo. Antes de la siembra, las semillas se sumergieron en agua y se eliminaron las que flotaban. Posteriormente se desinfectaron las semillas con una solución de cloro a 10% por 20 minutos y se prosiguió con un tratamiento pre-germinativo para romper la latencia de la semilla. El cual consistió en remojar las semillas en agua destilada, de 30 a 60 minutos dependiendo de la colecta, hasta que la testa se reblandeciera. Las semillas de las ocho colectas, se sembraron en bolsas negras de 1 kg con una mezcla (2:1) de tierra arenosa y hojas secas, cuatro semillas por cada maceta a una profundidad de 2 cm. Las macetas se mantuvieron con riego sin exceder la humedad para evitar pudrición en la semilla. Después de 30 a 40 días de que las plantas emergieron, se separó el tallo de las hojas, se cortaron los cuatro

primeros nudos a partir del primer par de hojas verdaderas y se almacenaron en papel aluminio a - 80 °C para su posterior análisis. En la Figura 2.5 se ilustra el establecimiento de las plántulas en el invernadero.

Segunda siembra de colectas de haba. El procedimiento de la siembra fue el mismo que el anterior, solo que el período de cultivo fue de mayo-julio del 2015. Se recolectaron las plántulas de 50 días de emergidas. El tallo se cortó desde el inicio de las primeras hojas verdaderas aproximadamente de 25 a 30 cm de largo, se retiraron las hojas, sólo se utilizó el tallo. Los tallos troceados se colocaron en charolas para ser secados en una estufa a 40 °C / 48 h. Posteriormente con un mortero y N₂ líquido se trituraron, el polvo obtenido se tamizó en una malla de 250 micrones y se colocaron en frascos. Se almacenaron a - 20 °C para su posterior análisis.

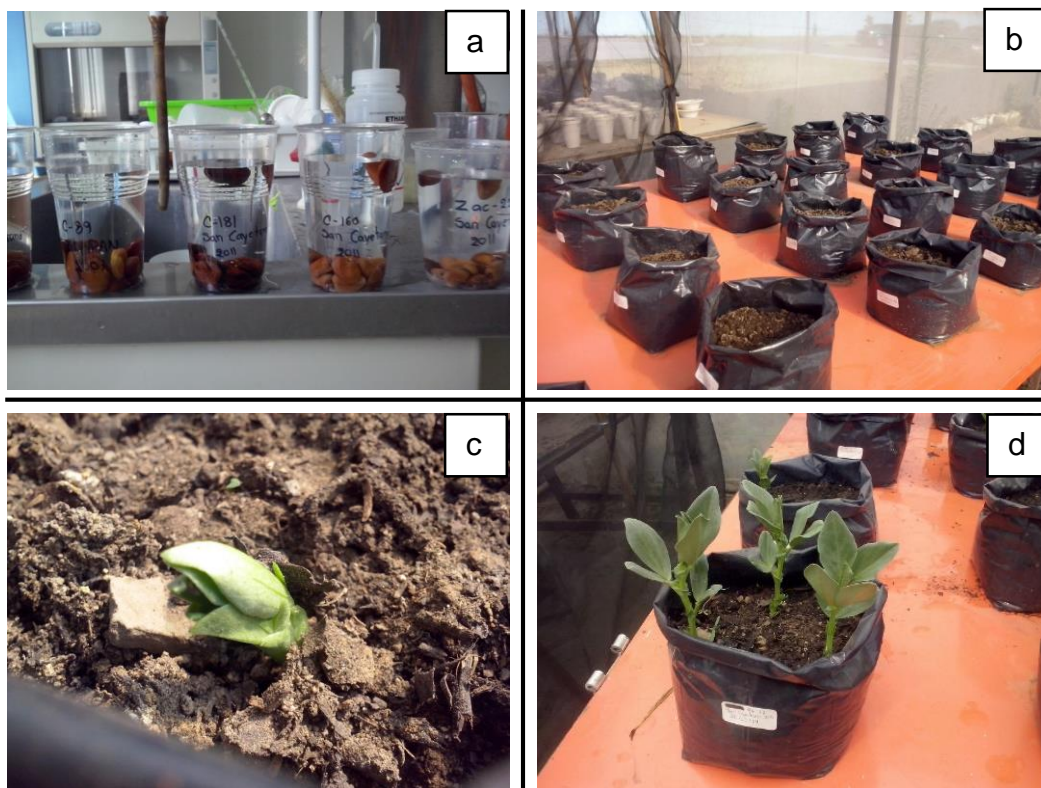


Figura 2.5 Imágenes del proceso de obtención de los tallos de las colectas de haba: a) selección y remojo de semillas, b) macetas cada una con 4 semillas, c) germinación de la semilla y d) crecimiento de tallos.

Análisis de Isoflavonas (IFs)

La determinación de isoflavonas se llevó a cabo con un análisis de detección y otro de cuantificación. El primero fue un análisis cualitativo en donde se evidencio la presencia o ausencia de estos metabolitos secundarios por medio de cromatografía en capa fina (CCF). El segundo análisis se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Análisis de isoflavonas con cromatografía en capa fina (CCF)

Extracción. La metodología empleada para la extracción de estos compuestos fue similar a la de Yu *et al.* (2000) con algunas modificaciones. Se sacó la muestra del congelador y se pesaron 200 mg del tallo. Se cortó en pedazos pequeños para tener una mejor trituración en mortero; previamente congelado. El tejido triturado se colocó en eppendorf, se le agrego 1 mL de metanol a 80 % y se agito durante 0.5 min. Se centrifugo a 3500 rpm durante 2 min a 4 °C. Se extrajo todo el sobrenadante (1 mL) y se colocó en un frasco ámbar con tapa. Al extracto se le agregaron 3 mL de HCl a 1 N. Sin tapar el frasco la muestra se incubo a 95 °C durante 2 h. Seguido de la incubación se agregó 1mL de acetato de etilo y se tapó el frasco. Se agito durante 0.5 min y a temperatura ambiente se prosiguió a la aplicación de los extractos en la placa cromatográfica (entre 20 y 30 aplicaciones).

Preparación de estándares. Se utilizaron las IFs de mayor presencia en la soya, daidzeína (Fluka, 16587) y genisteína (Sigma, G6776). Se pesaron 0.20 mg de cada estándar y se disolvieron en 1 mL de metanol, se homogenizaron y se almacenaron a - 40 °C para su posterior uso. Este mismo procedimiento se llevó a cabo por separado para cada isoflavona, de esta manera se identificó el corrimiento de cada estándar.

Condiciones de análisis. Para el análisis se utilizaron placas de silica gel de 5 x 5 cm con indicador de fluorescencia (Sigma, Z193275) y un sistema de solventes de tolueno-acetato de etilo-acetona-ácido fórmico (74:14.8:7.4:3.8). Para observar las IFs, genisteína y daidzeína, se utilizó una cámara con una lámpara UV (UVP, UVLMS-38) a una longitud de onda de 254 y 302 nm. Para una mejor visibilidad de las IFs, después de la aplicación del extracto la placa se expuso a una solución concentrada de amonio (MEYER, 0590)

por 2 min para una mejor detección de daidzeina. Las condiciones para CCF se basaron en las propuestas por Yuan *et al.* (2006) con algunas modificaciones.

Análisis de isoflavonas con HPLC

Extracción. Se llevó a cabo de acuerdo a Wang y Murphy (1994a), con algunas modificaciones para una mejor extracción. Se pesaron 300 mg de tallo de haba molido y se colocaron en un frasco ámbar, se agregó una solución de 5 mL de acetonitrilo (ACN) (J. T. Baker, 9017), 1 mL de HCl etanólico a 0.5 N, con 0.05 % de 2,6-Di-ter-butil-4-metilfenol (BHT) (Sigma, B1378). Se tapó el frasco y se homogenizó durante 2 h a temperatura ambiente. Después se filtró al vacío con papel filtro (Whatman no. 2) en un matraz kitasato. El filtrado se concentró a sequedad en un rotavapor (Heidolph, 4000) a 37 °C y se re-suspendió con 1 mL de 80 % metanol grado HPLC (J. T. Baker, 9093). Posteriormente el material re-suspendido se filtró en un acrodisco de 0.45 µm (PALL, 4556T) y se depositó en un vial ámbar. Las muestras se almacenaron en un congelador (- 40 °C) 24 h antes de su análisis. En la Figura 2.6 se muestran algunas de las imágenes del proceso de extracción de las isoflavonas.

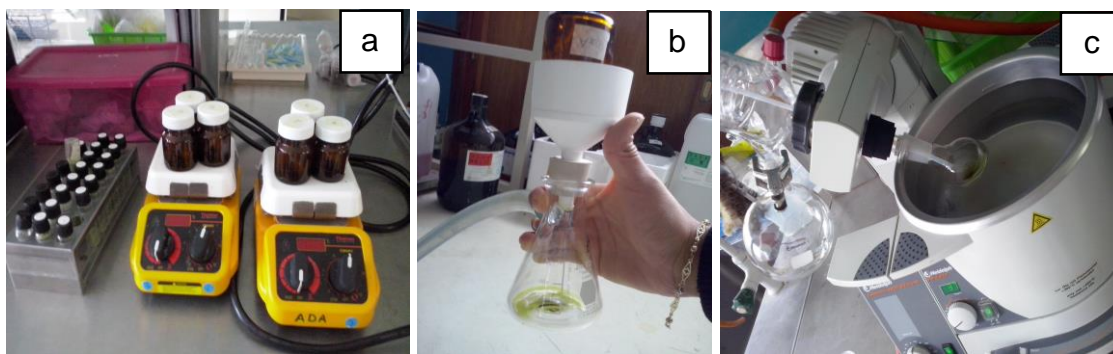


Figura 2.6 Imágenes del proceso de extracción de isoflavonas: a) agitación de la mezcla del polvo de tallo y los solventes, b) filtrado al vacío, c) concentrado de la muestra.

Condiciones del equipo. La metodología empleada para las condiciones de análisis fue la de Wang y Murphy (1994a), con algunas modificaciones. El equipo empleado fue un HPLC (Agilent technologies, Infinity 1260) con un detector de arreglo de diodos y una columna Zorbax Eclipse XDB-C18 (50 mm de longitud x 4.6 mm de diámetro interno, 3.5 µm tamaño de partícula). Las fases móviles se hicieron todas con solventes grado HPLC.

Fase móvil A: 0.1 % de ácido acético glacial en agua y B: 0.1 % de ácido acético glacial en ACN. Se utilizó un gradiente lineal, donde los dos primeros minutos la fase móvil A, se mantuvo en 100 %, después fue descendiendo de 95 – 65 % durante los 38 minutos restantes. La inyección de la muestra fue de 0.5 mL min⁻¹, su detección fue a 260 nm y se mantuvo a una temperatura de 25 °C. Los estándares marcaron un tiempo de retención aproximada de 31 min para daidzeína y 36 min para genisteína (Figura 2.7A).

Preparación de curvas de calibración. Los estándares utilizados fueron daidzeína (Fluka, 16587) y genisteína (Sigma, G6776). Para genisteína se pesó en una microbalanza (CAHN, C-33) 250 µg y se diluyó en un matraz aforado de 250 mL con 80 % metanol obteniendo una concentración de 1 µg mL⁻¹, para realizar una curva de calibración de 0.01 - 0.3 µg mL⁻¹ con 9 puntos. En el caso de daidzeína se pesó 1 mg en una microbalanza y se diluyó en un matraz aforado de 25 mL con 80 % metanol para tener una concentración final de 40 µg mL⁻¹ y posteriormente hacer una curva de calibración de 10 - 20 µg mL⁻¹ con 5 puntos (Figura 2.8A, ver anexo).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de PT, AAST, OLG y FDT en los tres factores se sometieron a análisis de varianza, prueba de comparación de medias de Tukey, correlación de Pearson (solo en diseño de *factor genotipo/ambiente*), análisis de componentes principales (ACP) y análisis de conglomerados (dendograma). Para los resultados de isoflavonas solo se realizaron ANOVA y comparación de medias de Tukey. Los datos se analizaron con los softwares estadístico Business Analytics SAS (versión 9), JMP (Versión 5.0.1.) y el programa SPSS (versión 19).

2.3 Resultados y discusión

Análisis de varianza de componentes nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. de acuerdo a los *factores ambiente, año de cosecha y genotipo/ambiente*

Los siete componentes nutricionales y/o funcionales que se determinaron en la harina de las ocho colectas de haba fueron, proteína total (PT), aminoácidos solubles totales (AAST), fibra dietética total (FDT), sacarosa (SAC), rafinosa (RAF), estaquiosa (EST) y verbascosa (VER). En donde se evaluaron tres diferentes factores, *factor*

ambiente (FA), *factor año de cosecha (FAC)* y *factor genotipo/ambiente (FGA)*, en un análisis combinado de varianza para los efectos de genotipo (G), ambiente (A) e interacción genotipo ambiente (G x A).

Con los resultados de las medias de los componentes nutricionales y/o funcionales de cada factor analizado (Cuadro 2.5), se argumenta que:

- Las colectas de haba evaluadas tienen valores semejantes e incluso superiores en PT, en ambiente 29.80 %, en año de cosecha 24.59%, en genotipo/ambiente 25.84 %, en comparación con los resultados obtenidos por Vioque *et al.* (2012) quienes evaluaron proteína en harina de haba completa (testa y cotiledón), teniendo un resultado de 26.6 %. Kumar *et al.* (2015) en su estudio de proteína soluble total de 11 variedades de *Vicia faba* L. de cuatro regiones agroclimáticas obtuvo rangos de 20 - 32 %. La FAO (1970) da valores promedio de proteína total en haba de 23.4 g 100 g⁻¹.
- En AAST las medias obtenidas de los factores ambiente 677.28 mg 100 g⁻¹, año de cosecha 411.86 mg 100 g⁻¹ y genotipo/ambiente 613.15 mg 100 g⁻¹, en comparación con este estudio Kumar *et al.* (2015) obtuvieron valores bajos de aminoácidos libres (188 – 348 mg 100g⁻¹).
- Los contenidos de FDT para ambiente (32.08 %), año de cosecha (28.44 %) y la interacción genotipo/ambiente (30.55 %) de las colectas de haba evaluadas fueron altos, respecto a otras leguminosas *Pisum sativum* (10 – 18 g 100 g⁻¹), *Phaseolus vulgaris* (23 – 32 g 100 g⁻¹), *Cicer arietinum* (18 -22 g 100 g⁻¹), *Lens culinaris* (18 – 20 g 100 g⁻¹) y de su misma especie *Vicia faba* L. (20 – 26 g 100 g⁻¹), cabe mencionar que en estas leguminosas se analizó el contenido de fibra dietética total en la semilla completa (testa y el cotiledón) (Giczewska y Borowska, 2003; Tosh y Yada, 2010), mientras que en esta investigación solo se utilizó el cotiledón.
- En SAC los valores obtenidos en el haba fueron mayores en ambiente 3.5 %, para año de cosecha 2.59 %, para genotipo/ambiente 2.48 %, a diferencia de genotipos de lenteja con rangos de 0.7 - 2.4 g 100 g⁻¹.
- Los α -galactosidos en ambiente, año de cosecha y genotipo/ambiente presentaron valores altos de RAF y EST pero valores bajos de VER; en comparación con los resultados de Vidal-Valverde *et al.* (1998) quienes tuvieron valores en *Vicia faba* L.

mayor (base seca) de rafinosa $0.28 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, estaquiosa $1.10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$, y verbascosa $2.29 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (Vidal-Valverde *et al.*, 1998).

Respecto al *factor ambiente*, el análisis de varianza (Cuadro 2.5) muestra que no hay diferencia significativa en PT y RAF en A, G y G x A, mientras que en AAST los resultados fueron altamente significativos ($p < 0.01$).

Para el *factor año de cosecha*, el análisis de varianza muestra diferencias significativas ($p < 0.05$) y altamente significativas ($p < 0.01$) en todas las variables excepto en AAST y FDT (Cuadro 2.5).

En el *factor genotipo/ambiente* en PT hubo diferencia significativa ($p < 0.05$), y en todas las demás variables las diferencias fueron altamente significativas ($p < 0.01$) (Cuadro 2.5).

Comparación de medias de Tukey de componentes nutrimentales y/o funcionales de colectas de *Vicia faba* L. respecto al *factor ambiente*, *factor año de cosecha* y *factor genotipo/ambiente*

En el Cuadro 2.6 se observa que en el *factor ambiente*, la localidad de Tlachichuca tuvo mayores contenidos para cuatro de las variables evaluadas (AAST, FDT, EST y VER), y en dos de ellas (PT y RAF) no se detectaron diferencias significativas. Respecto al genotipo, la C-89 presentó concentraciones mayores en AAST y FDT, y en las demás variables fue estadísticamente igual a la C-181.

Los Cuadros 2.3A y 2.4A (ver anexo) muestran la concentración de compuestos nutricionales y/o funcionales en relación con el ambiente en el que se sembró. Se observa que la colecta C-181 sembrada en Zoapan tuvo la mayor cantidad ($31.30 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) de PT, sin embargo, esa misma colecta pero en Tlachichuca su valor fue el más alto ($794.76 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) de AAST. La colecta C-89 sembrada en Tlachichuca mostró el valor más alto ($35.10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) de FDT. La colecta C-181 sembrada en Zoapan, sus cantidades son adecuadas ($2.88 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) de OFR (rafinosa, estaquiosa y verbascosa). Para el consumidor, un alto contenido de estos azúcares tienden a provocar ciertos malestares e inconvenientes estomacales, flatulencias, gases, diarrea, etc. (Martínez-

Villanueva *et al.*, 2008; Tahir *et al.*, 2011), pero en concentraciones pequeñas tienen ciertos beneficios fisiológicos (Roberfroid, 1998; Swennen *et al.*, 2006; Mussatto y Mancilha 2007). Martínez-Villaluenga *et al.* (2008) sugieren que la dosis adecuada para obtener beneficios en la salud es de 3 g día⁻¹, mientras que Tahir *et al.* (2011) mencionan que el consumo de alimentos que contengan estos α -galactosidos debe ser menor de 3 g día⁻¹, sin embargo, esto dependerá de la sensibilidad de cada individuo.

El Cuadro 2.3A concentra los resultados de la combinación ambiente/genotipo, en donde se muestran los contenidos obtenidos de la colecta C-89 y C-181 en dos ambientes. En Zoapan las colectas no mostraron diferencias significativas, excepto en el contenido de PT y AAST. Respecto a la concentración total de OFR (2.88 - 3.75 g 100 g⁻¹), las colectas (C-89 y C-181, sembradas en Zoapan) presentaron valores bajos en comparación con diferentes genotipos de lentejas (4.5 - 6.7 g 100 g⁻¹) (Tahir *et al.*, 2011) y otros genotipos de haba (3.67 g 100 g⁻¹) (Vidal-Valverde *et al.*, 1998), lo cual es deseable para el consumidor que prefiere tener concentraciones bajas de OFR. En Tlachichuca, no se detectaron diferencias significativas en las variables PT, AAST, SAC y RAF, pero en FDT, EST y VER sí hay.

De la combinación genotipo/ambiente, los datos mostraron que en ambas colectas (C-89, C-181), la concentración de los compuestos fueron en general mayores en Tlachichuca que en Zoapan (Cuadro 2.4A). La Figura 2.7 y Figura 2.8 muestran la interacción genotipo/ambiente de los resultados de AAST, FDT y oligosacáridos de las colectas C-89 y C-181 entre dos ambientes diferentes.

Cuadro 2.5 Análisis de varianza de compuestos nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. de acuerdo al *Factor Ambiente*, *Factor Año de Cosecha* (2006, 2011 y 2012) y *Factor Genotipo/Ambiente*.

	Variable	Media	C.V.	Cuadrado de la media		
				AMB	GEN	GxA
Ambiente	% PT	29.80 ^{NS}	4.93	0.3234 ^{NS}	10.1384 ^{NS}	2.0584 ^{NS}
	AAST (mg 100g ⁻¹)	677.28 ^{**}	5.43	158693.1001 ^{**}	27691.2169 ^{**}	30624.2137 ^{**}
	% FDT	32.08 ^{**}	5.15	19.1844 [*]	21.3906 [*]	9.5481 ^{NS}
	% SAC	3.50 ^{**}	5.79	0.6486 ^{**}	0.0954 ^{NS}	0.2976 [*]
	% RAF	0.39 ^{NS}	6.68	0.0002 ^{NS}	0.0002 ^{NS}	0.0002 ^{NS}
	% EST	1.44 ^{**}	4.55	0.0736 ^{**}	0.0147 ^{NS}	0.1776 ^{**}
	% VER	1.42 ^{**}	7.47	0.1200 [*]	0.0133 ^{NS}	0.2187 ^{**}
Año de cosecha				Año de cosecha		
	% PT	24.59	8.14	28.8497 [*]		
	AAST (mg 100g ⁻¹)	411.86	11.57	10603.3494 ^{NS}		
	% FDT	28.44	3.70	1.9914 ^{NS}		
	% SAC	2.59	2.37	7.0738 ^{**}		
	% RAF	0.32	8.20	0.0186 ^{**}		
	% EST	1.28	4.26	0.6274 ^{**}		
% VER	1.30	6.31	0.7494 ^{**}			
Genotipo/ambiente				AMB	GEN	GxA
	% PT	25.84 ^{**}	7.06	176.9562 ^{**}	9.1543 [*]	10.1253 [*]
	AAST (mg 100g ⁻¹)	613.15 ^{**}	13.73	337206.0164 ^{**}	151378.3633 ^{**}	63933.3490 ^{**}
	% FDT	30.55 ^{**}	4.72	50.5210 ^{**}	12.4558 ^{**}	18.0548 ^{**}
	% SAC	2.48 ^{**}	3.53	30.6346 ^{**}	3.3282 ^{**}	3.2626 ^{**}
	% RAF	0.31 ^{**}	6.90	0.1560 ^{**}	0.0093 ^{**}	0.0109 ^{**}
	% EST	1.22 ^{**}	4.27	4.4949 ^{**}	0.1262 ^{**}	0.1118 ^{**}
% VER	1.03 ^{**}	6.99	4.4362 ^{**}	0.1761 ^{**}	0.1708 ^{**}	

AMB: Ambiente; GEN: Genotipo; GxA: Interacción genotipo x ambiente; C.V. : Coeficiente de variación; PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; EST: Estaquirosa; VER: Verbascosa. NS no hay diferencias significativas, *P<0.05 Diferencia significativa, **P<0.01 Diferencias altamente significativas.

Cuadro 2.6 Comparación de medias respecto a Tukey de los componentes nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. de acuerdo al Factor Ambiente, Factor Año de Cosecha (2006, 2011 y 2012) y Factor Genotipo/Ambiente.

		% PT	AAST (mg 100g ⁻¹)	% FDT	% SAC	%RAF	%EST	%VER	
Factor	Ambiente	AMB							
		ZOA	29.97 ^a	562.29 ^b	30.98 ^b	3.73 ^a	0.38 ^a	1.37 ^b	1.32 ^b
		TLA	29.64 ^a	792.28 ^a	33.17 ^a	3.27 ^b	0.39 ^a	1.52 ^a	1.52 ^a
		GEN							
		C-89	28.88 ^a	725.32 ^a	33.24 ^a	3.41 ^a	0.39 ^a	1.41 ^a	1.38 ^a
		C-181	30.72 ^a	629.25 ^b	30.92 ^b	3.59 ^a	0.38 ^a	1.48 ^a	1.45 ^a
	Año de cosecha	AÑO							
		2006	26.88 ^a	371.03 ^a	29.13 ^a	3.65 ^a	0.37 ^a	1.51 ^a	1.63 ^a
		2011	21.06 ^b	384.47 ^a	27.72 ^a	0.83 ^c	0.23 ^b	0.75 ^b	0.72 ^b
		2012	25.82 ^{ab}	480.07 ^a	28.48 ^a	3.30 ^b	0.35 ^a	1.58 ^a	1.54 ^a
	Genotipo	AMB							
		SC	23.79 ^b	543.56 ^b	29.60 ^b	1.63 ^b	0.25 ^b	0.90 ^b	0.70 ^b
		TLA	27.89 ^a	702.76 ^a	31.50 ^a	3.34 ^a	0.37 ^a	1.55 ^a	1.35 ^a
		GEN							
C-281		28.49 ^a	843.30 ^a	30.19 ^{bc}	2.10 ^d	0.35 ^a	1.21 ^b	1.21 ^a	
C-160		25.43 ^{ab}	542.09 ^b	29.23 ^c	3.82 ^a	0.37 ^a	1.40 ^a	1.12 ^{ab}	
C-93		24.89 ^b	525.45 ^b	30.25 ^{bc}	2.00 ^{de}	0.27 ^c	1.07 ^c	0.96 ^c	
C-288		26.13 ^{ab}	834.32 ^a	32.69 ^a	1.93 ^e	0.28 ^c	1.21 ^b	1.01 ^{bc}	
C-Zac22		25.10 ^b	474.76 ^b	31.82 ^{ab}	3.25 ^b	0.34 ^{ab}	1.42 ^a	0.98 ^c	
C-146		25.22 ^{ab}	482.58 ^b	30.13 ^{bc}	2.28 ^c	0.28 ^c	1.05 ^c	0.72 ^d	
C-181		25.60 ^{ab}	589.63 ^b	29.53 ^c	2.02 ^{de}	0.30 ^{bc}	1.22 ^b	1.20 ^a	

AMB: Ambiente; GEN: Genotipo; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; EST: Estaquiosa; VER: Verbascosa; ZOA: Zoapan; TLA: Tlachichuca; SC: San Cayetano. Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferente.

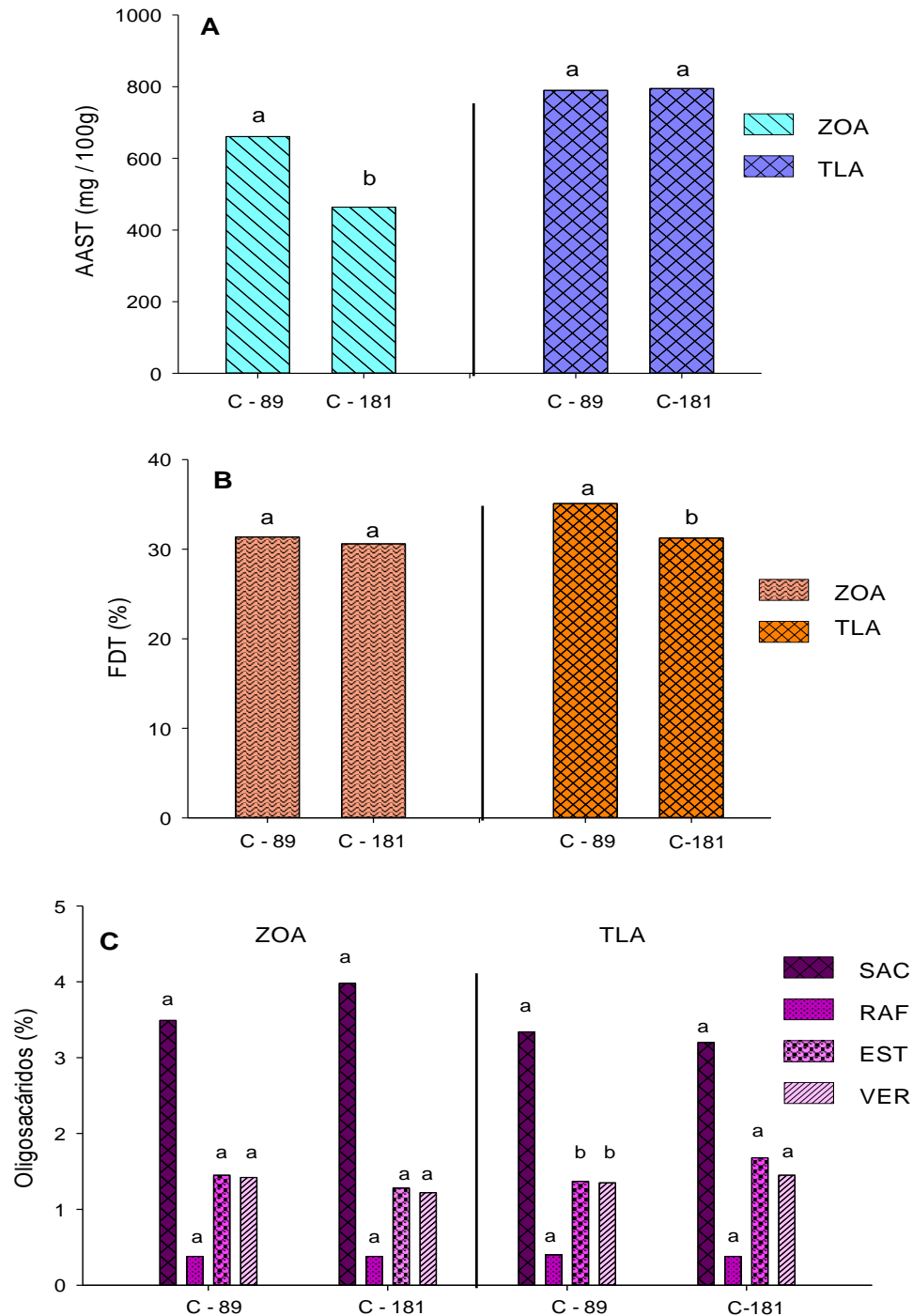


Figura 2.7 Resultados de la combinación genotipo/ambiente de dos colectas de haba sembradas en Zoapan (ZOA) y Tlachichuca (TLA). A) aminoácidos solubles totales (AAST), B) fibra dietética total (FDT) y C) oligosacáridos (SAC= sacarosa, RAF=rafinosa, EST=Estaquiosa, VER= Verbascosa). Medias con letras distintas en cada ambiente son diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

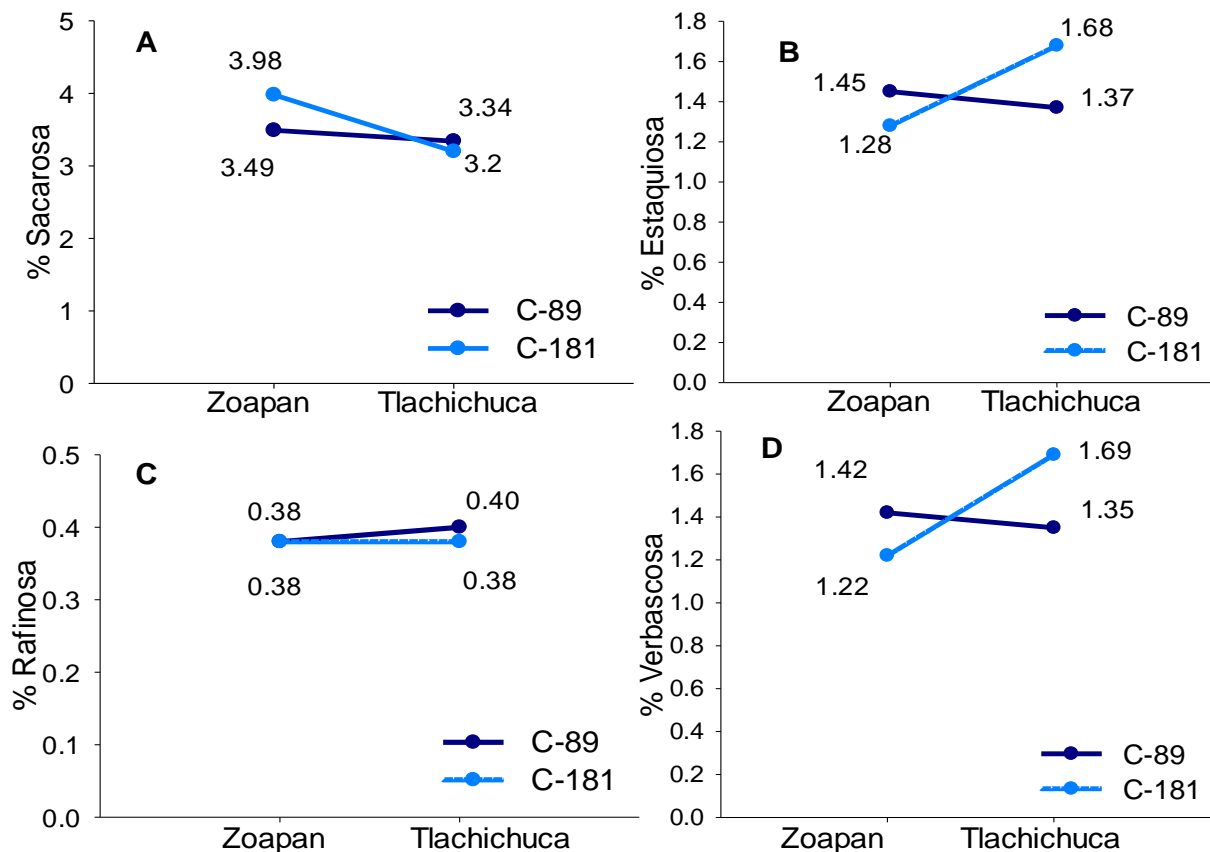


Figura 2.8 Interacción genotipo/ambiente de los resultados de oligosacáridos en dos colectas de haba (C-89 y C-181) en dos ambientes diferentes: A) Sacarosa, B) Rafinosa, C) Estaquirosa y D) Verbascosa.

Para el *factor año de cosecha* (Cuadro 2.6) no se detectaron diferencias significativas en las variables entre el año 2006 y 2012, mientras que para los valores obtenidos en el año 2011, sí, se aprecian diferencias altamente significativas entre los años. Esto pudo deberse a que en el año 2011, no fue un año adecuado para la siembra del cultivo; de acuerdo a Wang y Morphy (1994b), el año de cosecha tiene una mayor influencia que, cuando el cultivo es sembrado en diferentes localidades. Con estos resultados se puede argumentar que la semilla de haba después de seis años de almacenamiento no mostró diferencias en la calidad nutritiva y/o funcional, es decir, que aún siguen conservando sus propiedades nutricionales y funcionales al momento de consumirlas. La Figura 2.9 presenta los resultados de seis de las variables nutricionales y/o funcionales de la colecta C-181 sembrada durante tres años.

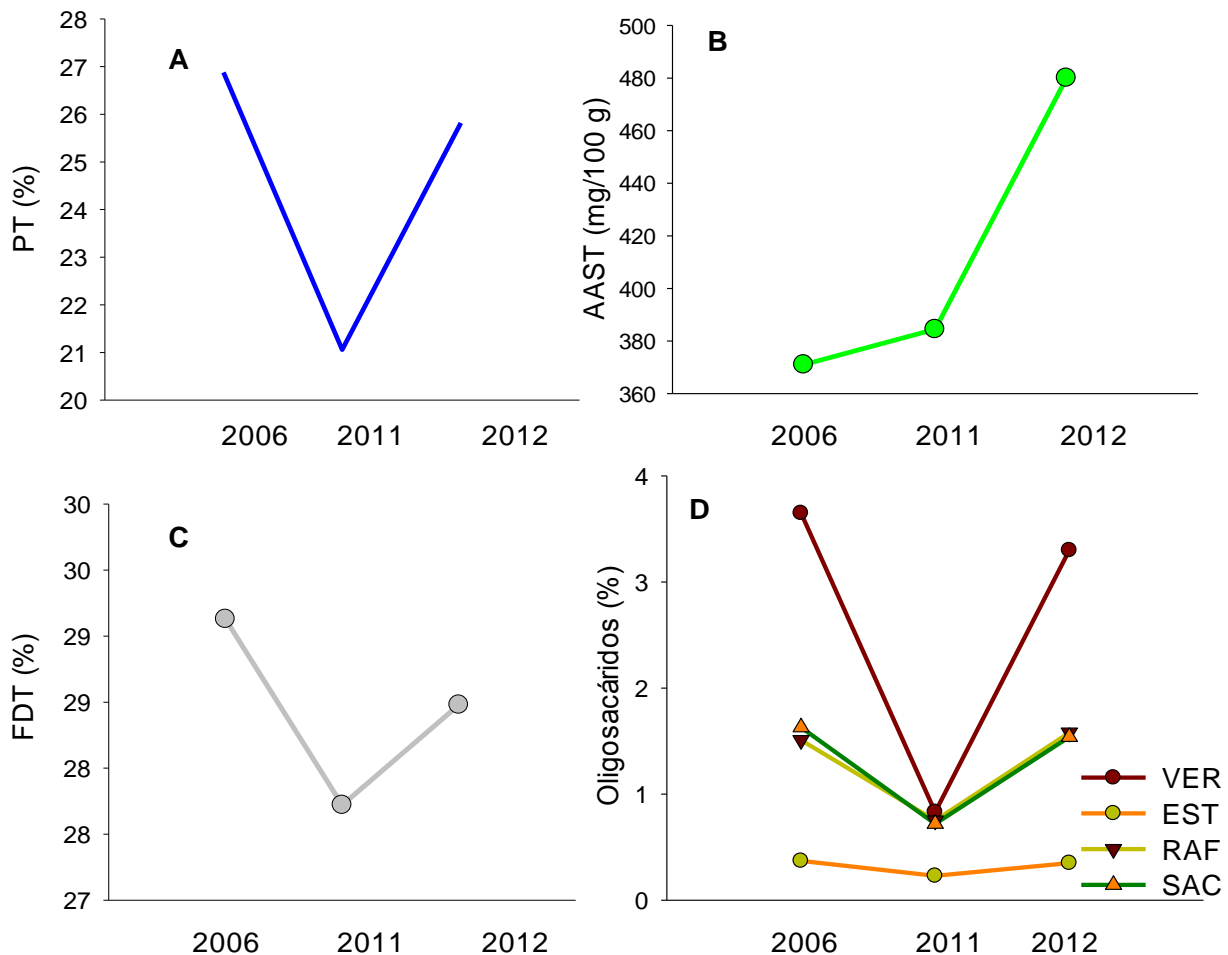


Figura 2.9 Porcentaje de: A) Proteína total (PT), B) Aminoácidos solubles totales (AAST), C) Fibra dietética total (FDT) y D) Oligosacáridos (SAC=sacarosa, RAF=rafinosa, EST=Estaquiosa, VER= Verbascosa) de la colecta de haba C-181 sembrada en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla, en tres años diferentes.

En el factor de genotipo/ambiente se observa que todas las variables tuvieron concentraciones estadísticamente mayores en el ambiente de Tlachichuca (TLA) que en el ambiente de San Cayetano (SC) (Cuadro 2.6). En el análisis de genotipos se detectaron diferencias altamente significativas, como se ha visto en otras investigaciones de leguminosas (Lee *et al.*, 2003; Tahir *et al.*, 2011). Las colectas C-281 y C-160 presentaron en general mayores concentraciones en las variables, sin embargo, no se distingue con claridad que colectas tienen los contenidos más bajos de estos componentes nutricionales y/o funcionales, existe una amplia variación entre los

resultados. En el Cuadro 2.5A (ver anexo) se presenta el análisis de combinación ambiente/genotipo, donde se observa variabilidad en los resultados en los dos ambientes San Cayetano y Tlachichuca, excepto para PT en el ambiente Tlachichuca, entre los genotipos no hay diferencias significativas. En la Figura 2.10 se observan los resultados obtenidos de PT y FDT de los siete genotipos de haba evaluados que se sembraron en San Cayetano. En cuanto a la concentración de proteína se destaca que solo la C-281 fue estadísticamente mayor a la C-181 (Figura 2.10). Respecto a la FDT la colecta Zac-22 fue estadísticamente mayor a la C-281, C-160, C-288, C-146 y C-181 (Figura 2.10 B).

El Cuadro 2.6A (ver anexo) combinación genotipo/ambiente, muestra que las concentraciones de las variables nutricionales y/o funcionales en todos los genotipos son mayores en el ambiente de Tlachichuca que en el de San Cayetano. En la Figura 2.11 se presenta como ejemplo la interacción genotipo/ambiente de los resultados de oligosacáridos de la colecta C-288, para apreciar que los contenidos de estos azúcares son más altos en Tlachichuca. Con base en estos resultados, se supone que las condiciones que componen el ambiente de Tlachichuca son propicias no solo para el desarrollo del cultivo de haba como lo establece Herrera-Cabrera *et al.* (2011), sino que también son aptas para tener buenos contenidos de componentes nutricionales.

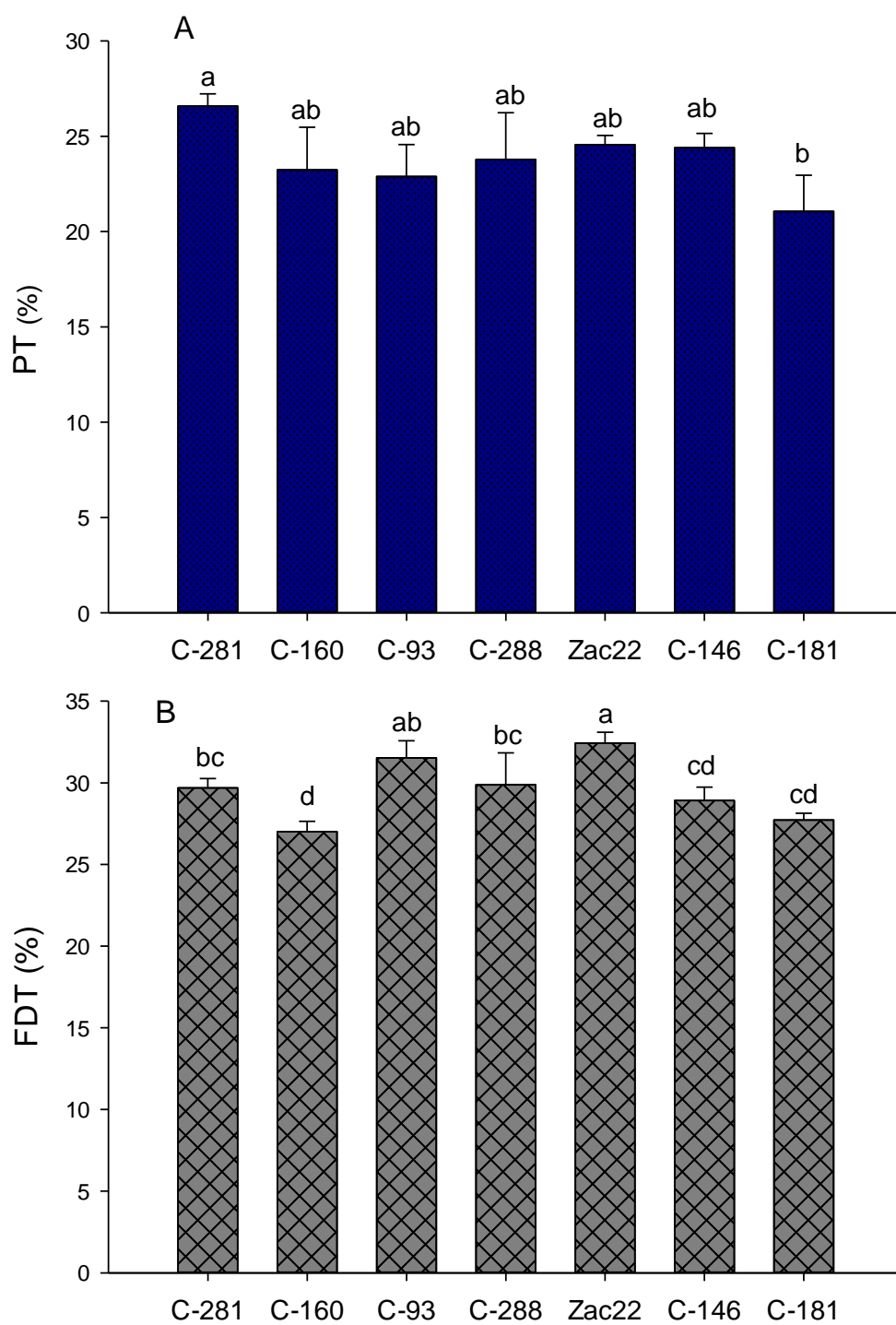


Figura 2.10 Porcentaje de A) proteína total (PT) y B) fibra dietética total (FDT) de siete colectas de *Vicia faba* L. sembradas en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla. Medias con letras distintas por variable son diferentes de acuerdo a la prueba de Tukey ($P < 0.05$)

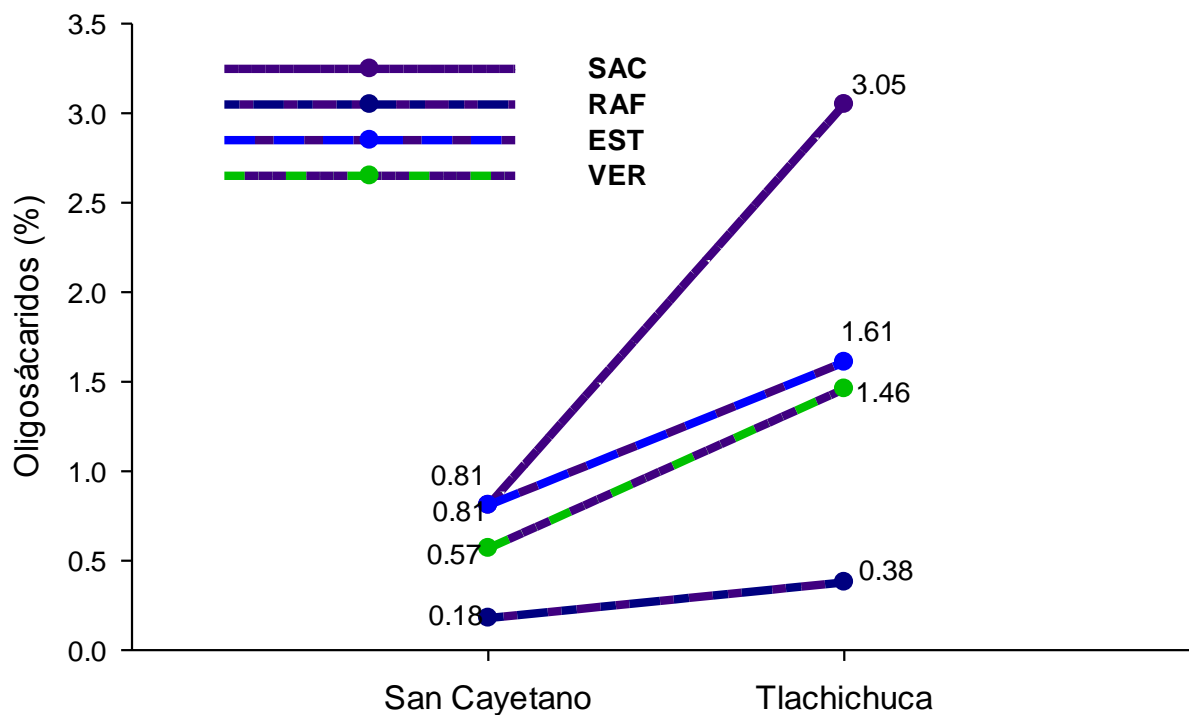


Figura 2.11 Interacción genotipo/ambiente de los resultados de oligosacáridos (SAC=sacarosa, RAF=rafinosa, EST=Estaquiosa, VER=Verbascosa) del genotipo C-288 en dos ambientes.

Correlaciones de Pearson

Las correlaciones en *FGA* entre los contenidos de compuestos nutricionales y/o funcionales en el ambiente de San Cayetano se muestran en el Cuadro 2.7. La sacarosa se correlaciono positivamente con RAF ($r = 0.9072^{***}$) y EST ($r = 0.7970^{***}$). Rafinosa fue correlacionada positivamente con EST ($r = 0.8720^{***}$) y VER ($r = 0.6163^{***}$). Al igual, estaquiosa fue correlacionada positivamente con VER ($r = 0.7464^{***}$). Proteína total se correlaciono positivamente con AAST ($r = 0.5678^{***}$). FDT no tuvo correlación con ninguno de los compuestos evaluados.

Cuadro 2.7 Coeficiente de correlación entre componentes nutricionales y/o funcionales en colectas de *Vicia faba* L., en el ambiente de San Cayetano.

	SAC	RAF	EST	VER	PT	AAST	FDT
SAC	1	0.9072***	0.7970***	0.3505	0.0374	-0.3757	-0.2210
RAF		1	0.8720***	0.6163**	0.1734	-0.2996	-0.1968
EST			1	0.7464***	0.2209	-0.2144	0.1617
VER				1	0.2940	-0.1044	0.2529
PT					1	0.5678**	0.2583
AAST						1	0.1491
FDT							1

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; EST: Estaquiosa; VER: Verbascosa.* P<0.05 Correlación moderada, ** P<0.01 Correlación alta, *** P<0.001 Correlación muy alta.

Sin embargo, en el ambiente de Tlachichuca (Cuadro 2.8), la sacarosa tuvo una correlación inversa RAF ($r = -0.4423^*$), EST ($r = -0.4696^*$), VER ($r = -0.6302^{**}$), PT ($r = -0.6322^{**}$), AAST ($r = -0.8815^{***}$), FDT ($r = -0.4397^*$). Rafinosa tuvo una correlación positiva con VER ($r = 0.5608^{**}$), PT ($r = 0.4636^*$) y AAST ($r = 0.5737^{**}$). Estaquiosa se correlaciono positivamente con VER ($r = 0.6793^*$). Verbascosa se correlaciono positivamente con PT ($r = 0.5499^{**}$) y AAST ($r = 0.5913^{**}$). Proteína total se correlaciono positivamente con AAST ($r = 0.5873^{**}$).

Cuadro 2.8 Coeficiente de correlación entre componentes nutricionales y/o funcionales en colectas de *Vicia faba* L., en ambiente de Tlachichuca.

	SAC	RAF	EST	VER	PT	AAST	FDT
SAC	1	-0.4423*	-0.4696*	-0.6302**	-0.6322**	-0.8815***	-0.4397*
RAF		1	0.1990	0.5608**	0.4636*	0.5737**	-0.1069
EST			1	0.6793***	0.2581	0.2947	0.2466
VER				1	0.5499**	0.5913**	0.1301
PT					1	0.5873**	0.1650
AAST						1	0.4126
FDT							1

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; EST: Estaquiosa; VER: Verbascosa.* P<0.05 Correlación moderada, ** P<0.01 Correlación alta, *** P<0.001 Correlación muy alta.

Gangola *et al.* (2013) encontraron en semillas de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) que la sacarosa tuvo una correlación positiva ($P \leq 0.001$ y $P \leq 0.05$) con rafinosa, estaquiosa y verbascosa. Mientras que en este trabajo, se encontraron correlaciones positivas como negativas entre estos oligosacáridos. Esto pudo deberse a que Gangola *et al.* (2013) no trabajo con dos ambientes diferentes como se realizó en esta investigación. Las correlaciones presentes entre oligosacáridos se pueden deber a que entre ellos, participan en su biosíntesis (Martinez-Villaluenga *et al.*, 2008; Gangola *et al.*, 2013). Proteína total se encuentra correlacionada con AAST ($P \leq 0.01$) en ambos ambientes, esto pudo ser, porque los aminoácidos conforman a las proteínas (Boyer, 2000; Gálvez *et al.*, 2006), por lo que existe una relación muy fuerte entre estas dos variables.

Distribución de la variación de componentes nutricionales y/o funcionales de las colectas de haba

Para realizar una caracterización general de las colectas de haba, con base en sus componentes nutrimentales y/o funcionales se hicieron análisis con técnicas quimiométricas; análisis de componentes principales (CPs) y análisis de conglomerados, con estos análisis se distingue la agrupación de las colectas de *Vicia faba* L., sobre la similitud que existe entre ellas y las disimilitudes entre los diferentes grupos.

Factor ambiente (FA)

La dispersión de cuatro muestras (C-Tla 181, C-Zoa 181, C-Tla 89 y C-Zoa 89) de *Vicia faba* L. representadas en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales, explicó 100 % de la variación acumulada de las siete variables estudiadas (Cuadro 2.7A, ver anexo). El primer componente (CP 1) explicó 56.54 % de la variación, se asocia principalmente con las variables, AAST localizados en el lado positivo del eje y en el lado negativo con SAC (Cuadro 2.7A, ver anexo). El componente principal dos (CP 2) explicó 35.31 % de la variación, se encuentra mayormente asociado con las variables RAF y FDT en el lado positivo del eje (Cuadro 2.7A). Con 8.16 % el componente principal tres (CP 3), se asocia principalmente con la variable PT (Cuadro 2.7A). La distribución espacial de las colectas de acuerdo con los componentes principales uno, dos y tres (Figura 2.12), muestran tres agrupaciones (**G I**, **G II** y **G III**). **G I** lo forman las colectas C-181 sembrada en Tlachichuca y C-89 sembrada en Zoapan,

son colectas que se caracterizan por tener altos contenidos de AAST (posicionadas en el lado positivo del CP 1) y contenidos medios de PT (posicionadas entre el lado positivo y negativo del CP 2) (Figura 2.12). **G II** y **G III** formaron grupos independientes y aislados, corresponden a las colectas C-89 y C-181 que se sembraron en Tlachichuca y Zoapan, respectivamente (Figura 2.12). **G II** se caracteriza por tener contenidos altos de RAF, FDT (posicionada en el lado positivo del CP 2) y contenidos medios en las demás variables. **G III** se caracteriza por tener altos contenidos de SAC (posicionada en el lado negativo del eje del CP 1) y PT (posicionado en el lado positivo del eje del CP 3) (Figura 2.12).

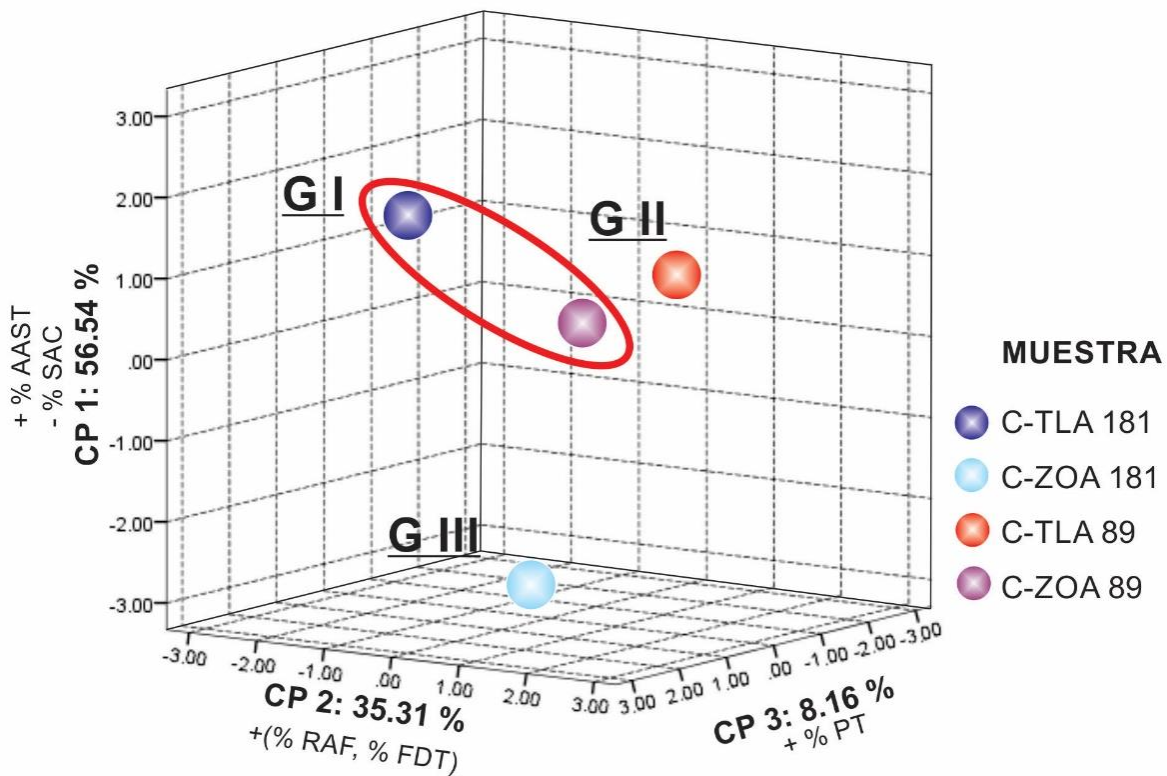


Figura 2.12 Dispersión de la interacción genotipo/ambiente de dos colectas de *Vicia faba* L. sembradas en Tlachichuca (Tla) y Zoapan (Zoa), basadas en los primeros tres componentes principales, respecto a las variables nutricionales y/o funcionales.

Las tres agrupaciones obtenidas en CPs (Figura 2.12) se comprueban con el análisis cluster, en donde también se observaron tres agrupaciones a un corte con una distancia Euclidiana de 0.77 (Figura 2.13). El dendrograma muestra que el primer grupo

(G I) pertenece a las colectas, C-181 sembrada en Tlachichuca y C-89 sembrada en Zoapan. Se caracterizan por tener contenidos altos en VER, EST y AAST y bajos de SAC, PT, RAF y FDT (Figura 2.13). En la segunda agrupación (G II) se localiza la colecta C-89 sembrada en Tlachichuca, se caracteriza por tener contenidos altos de RAF, FDT y AAST, mientras que en SAC, PT, EST y VER tiene valores medios. En la última agrupación (G III) se encuentra la colecta C-181 sembrada en Zoapan, con niveles altos de SAC y PT y bajos contenidos en las demás variables (Figura 2.13). Con base en los resultados, se sugiere que puede haber un efecto de genotipo y no de ambiente. En la Figura 2.9A del anexo, se aprecia gráficamente los perfiles del análisis y los contenidos aproximados en porcentaje de las variables.

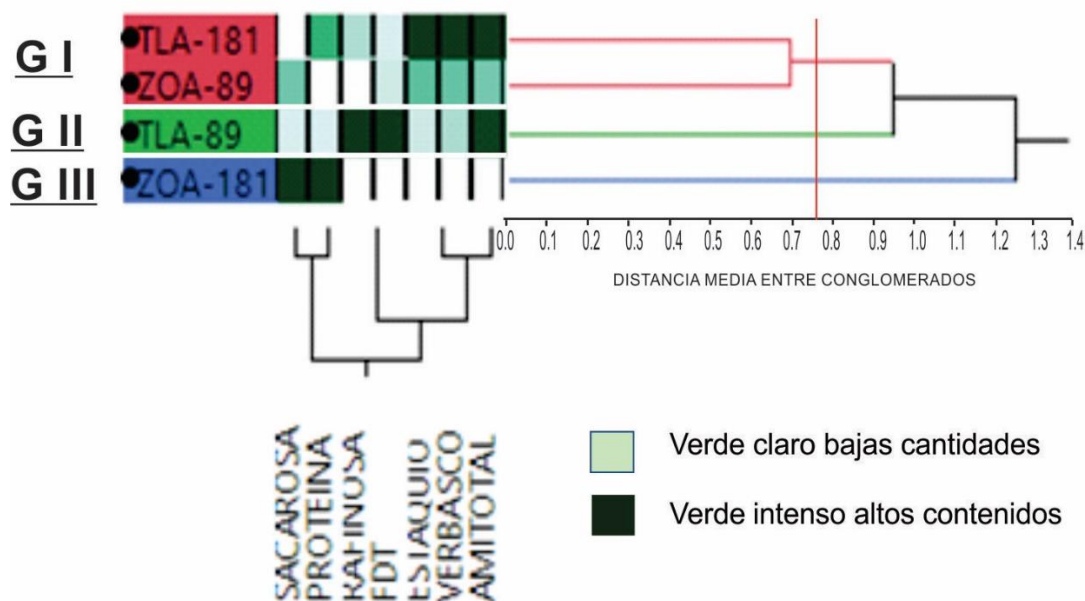


Figura 2.13 Dendrograma de la interacción genotipo/ambiente en el análisis de *Factor Ambiente*.

Factor año de colecta (FAC)

La dispersión de tres muestras de *Vicia faba* L. (colecta C-181 sembrada en los años 2006, 2011 y 2012) representadas en el espacio determinado por los dos primeros

componentes principales CP 1 (84.52 %) y CP 2 (15.48 %), explican 100 % de la variación acumulada de las siete variables estudiadas (Cuadro 2.7A). El CP 1 se encuentra mayormente asociado con las variables SAC, RAF, EST, VER y PT en el lado positivo del eje. Mientras que el CP 2, esta mayormente representado por la variable AAST. Dada la distribución anterior, se formaron dos grupos **G I** y **G II** (Figura 2.14). El **G I** se posicionó en el lado positivo del CP1 y se encuentra conformado por la colecta C-181 que fue sembrada en los años 2006 y 2012. Este grupo se caracteriza por tener concentraciones de oligosacáridos y proteína total (Figura 2.14). **G II** está situado en el lado negativo del CP 1 y CP 2 y lo forma la colecta C-181 sembrada en el año 2011. Este grupo tiene concentraciones bajas de las variables (Figura 2.14).

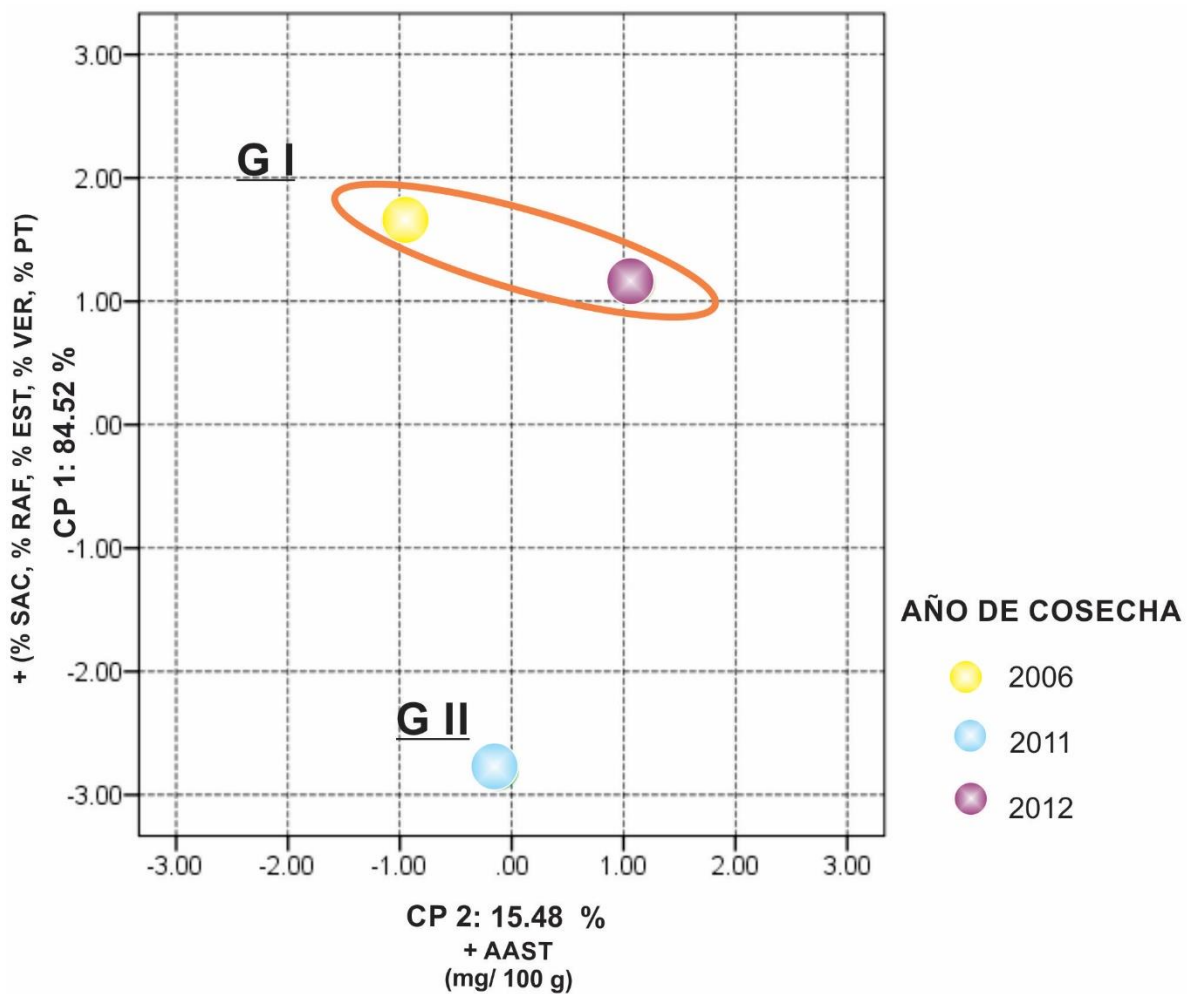


Figura 2.14 Dispersión de la variación de compuestos nutrimentales y/o funcionales de la C-181 sembrada en tres años diferentes.

El dendograma de *FAC* (Figura 2.15) muestra dos agrupaciones, a un corte con una distancia Euclidiana de 0.66. El primer grupo (**G I**) lo representa la C-181 sembrada en 2006 y 2012, con altos contenidos en la mayoría de las variables analizadas. En el segundo grupo (**G II**) lo forma la C-181 que se sembró en 2011, con muy bajos contenidos en PT, FDT, oligosacáridos y AAST. Estos mismos resultados se comprueban con los obtenidos en CPs (Figura 2.14) y comparación de medias de Tukey, donde se mencionó que el año de siembra puede ser un factor importante para el desarrollo del cultivo. De igual manera en los perfiles obtenidos (Figura 2.10A) se aprecia que la primera agrupación, tiene mayores cantidades de los componentes analizados que en la segunda agrupación.

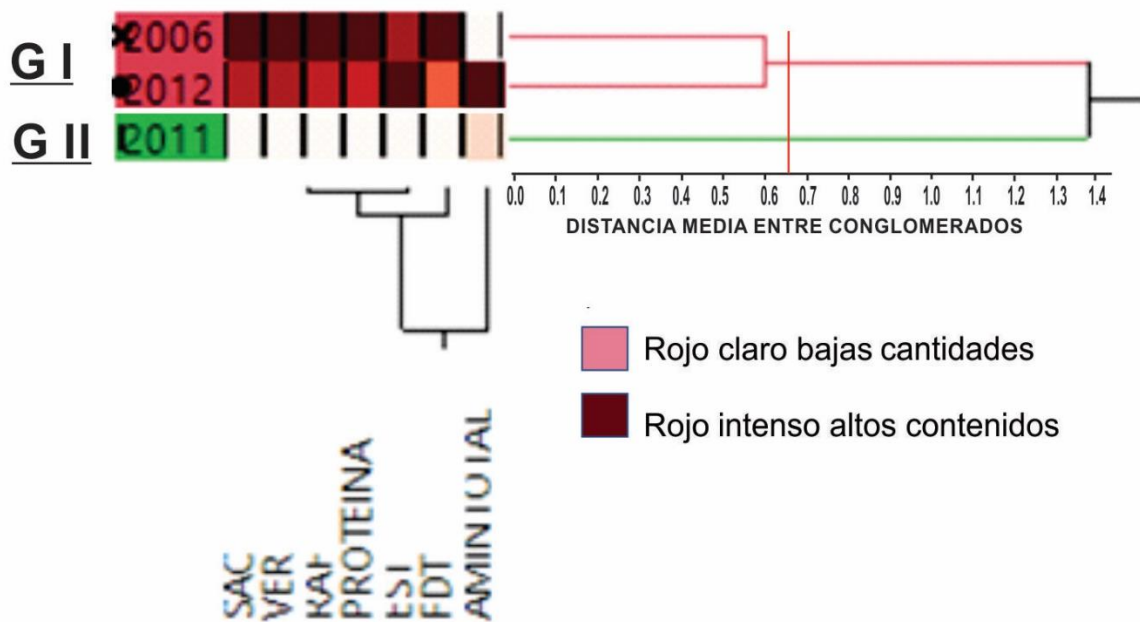


Figura 2.15 Dendrograma de la colecta C-181 en el análisis de *Factor Año de Colecta*, años 2006, 2011 y 2012.

Factor genotipo/ambiente FGA

La dispersión de catorce muestras de *Vicia faba* L. (siete colectas en dos ambientes), representadas en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales, explican 94.77 % de la variación total de las variables analizadas (Figura 2.16).

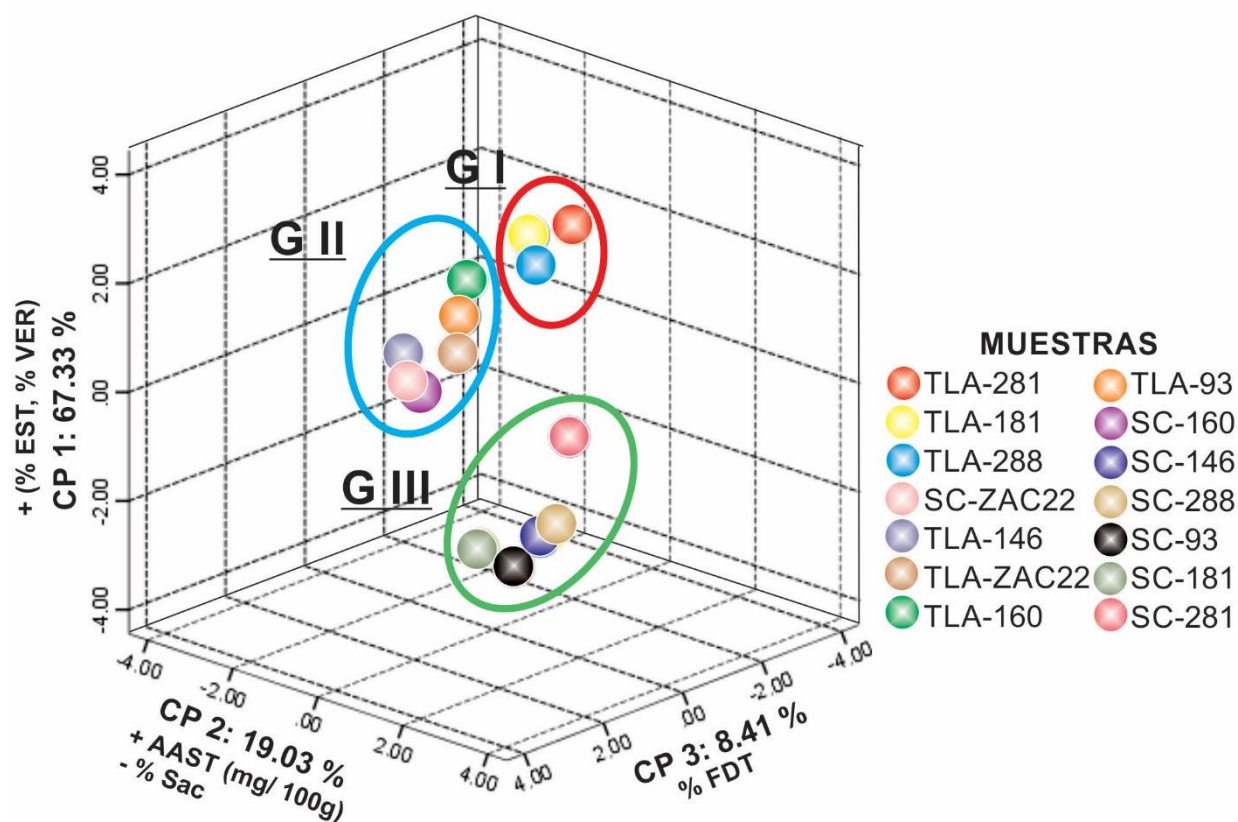


Figura 2.16 Dispersión de la interacción genotipo/ambiente de siete colectas de *Vicia faba* L. sembradas en Tlachichuca (TLA) y San Cayetano (SC), basada en los primeros tres componentes principales, respecto a las variables nutricionales y/o funcionales.

El CP 1 explica 67.33 % de la variación y se encuentra mayormente asociado con EST y VER en el lado positivo del eje (Cuadro 2.7A). El CP 2 explica 19.03 % del porcentaje de la variación, principalmente se asocia con las variables, SAC en el lado positivo del eje y AAST en la posición negativa. El CP 3 explica 8.41 % de la variación y se asocia con la variable FDT en el lado positivo del eje (Cuadro 2.7A). Con la distribución de las variables determinadas por los eigenvectores, se observan tres agrupaciones (**G I**, **G II** y **G III**) entre las muestras. **G I** se encuentra posicionado en el espacio del lado positivo del eje del CP 1 y CP 2 y en el lado negativo del eje del CP 3. El grupo lo forman

las muestras C-281, C-181 y C-288 sembradas en Tlachichuca y se caracterizan por tener altos contenidos de EST y VER y bajos contenidos de FDT (Figura 2.16). El **G II** se posicionan en medio del CP 1 y CP 2, está conformado por seis muestras, C-146 y C-93 sembradas en Tlachichuca, la C-160 y C- ZAC 22 sembradas en ambos lugares (Tlachichuca y San Cayetano). El grupo se caracteriza por tener contenidos medios de las variables estudiadas. El **G III** se posiciona en el lado positivo del CP 2 y en medio del eje del CP 3, está formado por cinco muestras sembradas en San Cayetano (C-281, C-288, C181, C-146, C-93). El grupo presenta contenidos medios de AAST y FDT y contenidos bajos en las demás variables.

La Figura 2.17 muestra el dendograma de *FGA* que presenta la interacción *GxA*, a un corte con una distancia Euclidiana de 0.81 forma tres agrupaciones (**G I**, **G II** y **G III**). **G I** se caracteriza por tener contenidos altos de los componentes analizados, se encuentra integrado por las colectas C-281, C-288 (originarias del estado de México) y C-181 (originaria del estado de Puebla) sembradas en Tlachichuca. Como propuesta, éste grupo de colectas además de ser consumidas, podrían ser utilizado para la extracción de sus componentes y usarse como aditivos para la producción de nuevos productos alimenticios (Crittenden y Playne, 1996; Martínez-Villaluenga *et al.*, 2008, Elleuch *et al.*, 2011) o también, como ingredientes funcionales en alimentos por sus propiedades fisiológicas beneficiosas para la salud (Mussatto y Mancilha, 2007). **G II** se caracteriza por tener valores medios de los componentes analizados, lo conforman cuatro colectas sembradas en Tlachichuca (C-146, C-160, C-ZAC22 y C-93) y dos en San Cayetano (C-ZAC22 y C-160). Cabe destacar que en este grupo las colectas C-ZAC22 y C-160 no presentaron interacción genotipo/ambiente, es decir, independientemente del ambiente en que se sembraron sus valores fueron similares en la concentración de los compuestos nutricionales y funcionales analizados. Este grupo por sus características, podría ser seleccionado para consumo humano de manera convencional o con el fin de que prevenga enfermedades (Silveira *et al.*, 2003; Trinidad *et al.*, 2010; Tahir *et al.*, 2011). **G III** tiene contenidos bajos de los componentes analizados, lo conforman cinco colectas, de las cuales, tres son las mismas colectas que se ubicaron en la primera agrupación (C-281, C-181 y C-288) pero, sembradas en San Cayetano, por lo que se aprecia notoriamente que hay una interacción *GxA*, el ambiente

influyo en los contenidos obtenidos. Por lo que las habas que se siembran bajo estos ambientes al presentar bajos contenidos en componentes serían aptas para consumo humano de manera convencional con el fin de que prevengan enfermedades, además para consumo animal, u otros usos donde se desee concentraciones mínimas de ciertos compuestos no deseables como los oligosacáridos que causan flatulencia. En la Figura 2.11A del anexo, se observa como hay agrupaciones con base en los contenidos de los componentes estudiados. El dendograma en este análisis comprueba las agrupaciones obtenidas en el análisis de CPs (Figura 2.16).

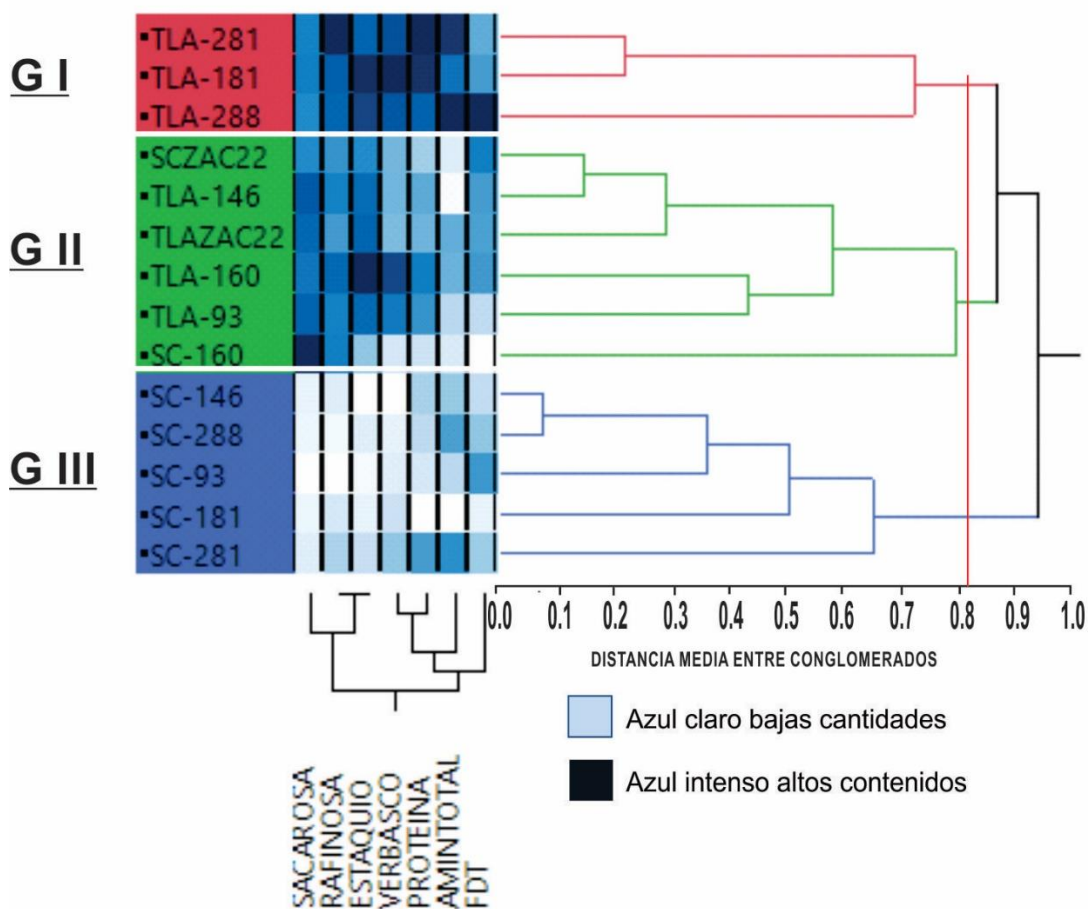


Figura 2.17 Dendograma de la interacción genotipo/ambiente de catorce muestras de haba, sembradas en San Cayetano (SC) Cd. Serdán, Puebla y Tlachichuca, Puebla (TLA).

Con los resultados obtenidos en todo el estudio se argumenta, que entre genotipos de *Vicia faba* L. existe variación respecto a los contenidos de componentes nutrimentales y/o funcionales. Por lo que se comprueba que existe un germoplasma que puede ser seleccionado para fines determinados en México, además, de acuerdo al informe nacional sobre el estado de los recursos fitogenéticos en México (2006), se menciona que el haba requiere de mayor atención; por lo que al encontrar en este estudio variación en sus componentes que generan nutrición y beneficios a la salud, y que estos contenidos dependen de ciertos factores (ambiente, año de cosecha, genotipo), el aporte de información es relevante para seguir desarrollando investigación.

Una de las aportaciones que genera este estudio, es que las colectas evaluadas de *Vicia faba* L. pueden ser seleccionadas para diferentes usos con base en sus contenidos y en función de ambiente que se cultiven. Fue notable en los resultados la evaluación de diferentes efectos, como el año de cosecha, genotipo (G), ambiente (A) y la interacción GxA, que en otros trabajos destacan su importancia en la planeación de estrategias para el desarrollo agrícola (Xioali *et al.*, 2008; Tahir *et al.*, 2011; Beleggia *et al.*, 2013; Gangola *et al.*, 2013). Hoy en día el tipo de alimentación, relacionada con la presencia de enfermedades crónico degenerativas, conlleva a considerar la selección y producción de colectas de haba específicas de mayor calidad nutricional y/o funcional, al igual que conocer las condiciones adecuadas para incrementar o disminuir sus contenidos según se requiera.

Análisis de isoflavonas por cromatografía en capa fina

A través de este análisis cualitativo se mostró la presencia de genisteína y daidzeína en tallo de plántulas de haba de seis semanas, como ya lo habían mencionado Kaufman *et al.*, (1997) en su trabajo en donde evaluaron tejidos de diferentes leguminosas, entre estos, el tallo de haba de un mes de desarrollo. También Saviranta *et al.* (2008) describieron la presencia de isoflavonas en plántulas de seis semanas de crecimiento en flores, hojas, tallo y raíces de *Trifolium pratense* L.

Los tallos de las colectas de haba C-281, C-146, C-160, C-89, C-288 y C-ZAC22 mostraron la presencia de ambas isoflavonas, y las colectas C-93 y C-181 sólo mostraron la presencia de genisteína (Figura 2.17). Esto pudo deberse a que la concentración de

daidzeína no fue detectable, o que la hidrólisis realizada para la extracción de las agliconas no haya sido efectiva (Chiang *et al.*, 2001), entre otras causas.

El sistema utilizado como eluyente dio una buena separación en la mezcla de los dos estándares (identificado con la letra E, Figura 2.18), lo que sugiere que este sistema es adecuado para el análisis de isoflavonas. Las distancias recorridas que se obtuvieron de los estándares (daidzeína $Rf_D = 0.27$ y genisteína $Rf_G = 0.38$), fueron similares a las descritas por Yuan *et al.* (2006), quienes obtuvieron para daidzeína un $Rf = 0.25$ y para genisteína $Rf = 0.38$). Las bandas que representan a daidzeína en los resultados obtenidos por los genotipos, variaron en un rango de $Rf_D = 0.285 - 0.297$ y de $Rf_G = 0.380 - 0.392$ para las bandas de genisteína. Todos los genotipos analizados tuvieron un Rf similar a las distancias obtenidas por los estándares, con variaciones mínimas en la posición de las centésimas y milésimas. Sin embargo, estas variaciones pudieron deberse a causas como el movimiento producido en el eluyente al colocar la placa inmersa verticalmente en la cámara cromatográfica o en que los volúmenes de los sistemas en las cámaras no hayan sido exactos.

Con esta metodología se pudo evidenciar que los componentes recorridos de las muestras en las placas de silicagel pertenecen a daidzeína y genisteína.

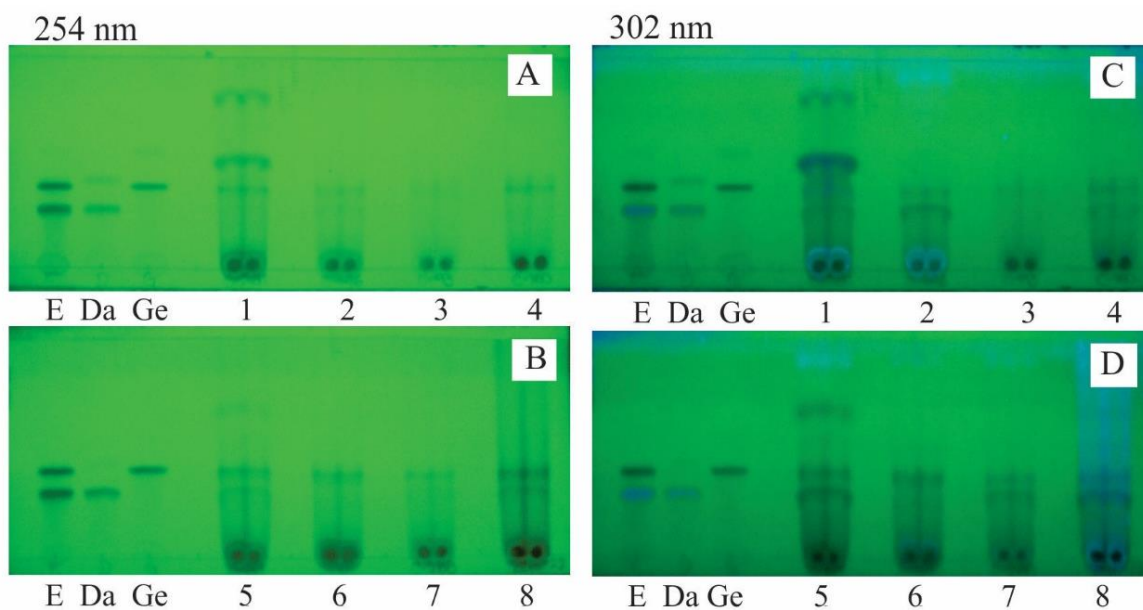


Figura 2.18 Placa de cromatografía vista en lámpara UV. A) y B) a 254 nm. C) y D) a 302 nm. E = solución de la mezcla de los dos estándares, Da = solución del estándar

daidzeína ($R_{fD} = 0.27$), Ge = solución genisteína ($R_{fG} = 0.388$). Las ocho colectas de haba representadas por: 1 = C-281 ($R_{fD} = 0.285$ y $R_{fG} = 0.392$), 2 = C-146 ($R_{fD} = 0.285$ y $R_{fG} = 0.380$), 3 = C-93 ($R_{fG} = 0.380$), 4 = C-160 ($R_{fD} = 0.297$ y $R_{fG} = 0.380$), 5 = C-89 ($R_{fD} = 0.294$ y $R_{fG} = 0.4$), 6 = C-181 ($R_{fG} = 0.388$), 7 = C-288 ($R_{fD} = 0.282$ y $R_{fG} = 0.388$), 8 = C-Zac22 ($R_{fD} = 0.282$ y $R_{fG} = 0.388$).

Análisis de isoflavonas con HPLC

Los resultados obtenidos en CCF de la presencia de isoflavonas en tallo de haba se confirmaron con el equipo HPLC, el cual detecta trazas de compuestos y ha sido utilizado en varias investigaciones para análisis de isoflavonas en diferentes tejidos vegetales (Graham, 1990; Yu *et al.*, 2000; Yuan *et al.*, 2006). Todos los genotipos mostraron contener daidzeína y genisteína en diferentes cantidades, y aunque la colecta C-93 y C-181 no revelaron la presencia de daidzeína en CCF con el análisis de HPLC si se detectó.

En el análisis estadístico ANOVA (Cuadro 2.9) se aprecia la media obtenida de las 24 muestras analizadas, con un valor promedio para daidzeína de 51.27 mg kg^{-1} , para genisteína de 0.48 mg kg^{-1} y de isoflavonas totales 51.76 mg kg^{-1} . Todos los resultados presentaron diferencias altamente significativas ($P < 0.01$), así como sucedió en semilla de soya en el trabajo de Wang y Morphy (1994b), donde encuentran diferencias altamente significativas en el total de isoflavonas y en las isoflavonas individuales analizadas de una sola variedad sembrada en tres años consecutivos.

Cuadro 2.9 Análisis de varianza de isoflavonas en tallo de *Vicia faba* L.

Isoflavona	Media (mg kg^{-1})	C.V. (%)	Cuadrado de la media Genotipo
Daidzeína (Da)	51.27	7.69	310.058**
Genisteína (Ge)	0.48	22.46	0.099**
Total (Da + Ge)	51.76	7.72	310.528**

NS no hay diferencias significativas

* $P < 0.05$ Hay diferencia significativa

** $P < 0.01$ Hay diferencia altamente significativa

Al encontrar diferencias altamente significativas se prosiguió con el análisis de comparación de medias respecto a Tukey (Cuadro 2.10), que mostró tres agrupaciones diferentes para daidzeína, en donde la primera agrupación comprende cuatro colectas

C-89, C-181, C-281 y C-146 con los valores más altos, aunque estadísticamente similares a C-Zac22 y C-160.

Respecto a genisteína, se observa que hay 4 agrupaciones. Destaco la colecta C-181 con el valor más alto (0.85 mg kg^{-1}) y la colecta C-Zac22 con el valor más bajo (0.30 mg kg^{-1}). En la suma de las isoflavonas los resultados muestran semejanza en la agrupación adquirida como en el análisis de daidzeína, debido a que el componente mayoritario en tallo de haba fue daidzeína, como lo describe Kaufman *et al.* (1997). En la Figura 2.19 se presenta la variación de las dos isoflavonas analizadas entre los genotipos. Se detecta que la colecta C-181 (60.74 mg kg^{-1}) fue la de mayor cantidad de isoflavonas totales obtenida en el análisis y la de más baja cantidad fue la colecta C-93 (35.23 mg kg^{-1}).

A pesar de ser la misma especie estas colectas tienen diferentes características físicas (tamaño de grano, color de la testa), que de acuerdo al agricultor, las variedades que utilizan las reconocen como tarragona amarilla y parraleña, cochinera morada, blanca y verde (Herrera-Cabrera *et al.*, 2011) (Cuadro 2.1), y con los resultados obtenidos también se aprecian esas variaciones ya no físicas sino de composición en los contenidos de isoflavonas.

Cuadro 2.10 Comparación de medias respecto a Tukey en análisis de isoflavonas en tallo de *Vicia faba* L.

Genotipo	Daidzeína (mg kg^{-1})	Genisteína (mg kg^{-1})	Total (Da + Ge) (mg kg^{-1})
C-89	59.98 a	0.43 bc	60.42 a
C-181	59.88 a	0.85 a	60.74 a
C-281	59.20 a	0.44 bc	59.64 a
C-146	58.29 a	0.32 bc	58.61 a
C-Zac22	53.44 ab	0.30 c	53.75 ab
C-160	45.81 ab	0.44 bc	46.25 bc
C-288	38.77 c	0.64 ab	39.41 c
C-93	34.82 c	0.41 bc	35.23 c

Medias con letras iguales en columna, no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

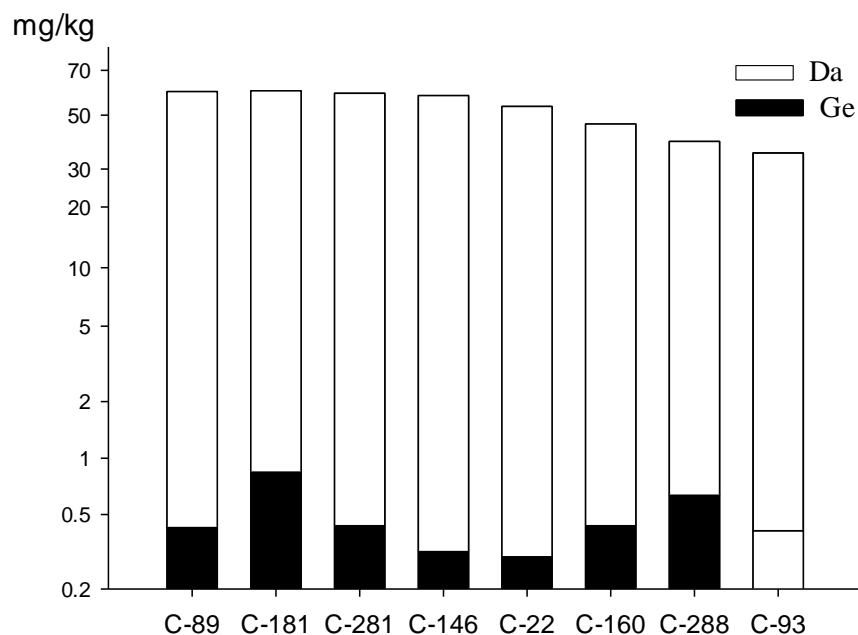


Figura 2.19 Contenido total de isoflavonas en tallos de ocho colectas de *Vicia faba* L.

Estos metabolitos (daidzeína y genisteína) considerados fitoestrógenos (Anderson, *et al.*, 1999; Duncan *et al.*, 2003) han sido ampliamente investigados por los posibles beneficios que tienen en enfermedades comúnmente encontradas en personas como son el cáncer de mama y próstata, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y la disminución de ciertas sintomatologías ocasionadas en la pre o pos menopausia (Murkies *et al.*, 1998; Anderson *et al.*, 1999; Messina, 1999; Setchell y Cassidy, 1999). Se encuentran principalmente en las especies *Glicine max* (Wang y Murphy, 1994a; Yuan *et al.*, 2006; César *et al.*, 2006) y en *Trifolium pratense* (Saviranta *et al.*, 2008) en diferentes tejidos y en diferentes proporciones. Sin embargo, son escasos los estudios de otras fuentes de leguminosas que también podrían proporcionar estos metabolitos para la extracción de los mismos. La leguminosa *Vicia faba* L. cuenta con muchos componentes que pueden ser beneficiosos para la salud del consumidor y aunque el tallo no es un tejido consumible (hasta la fecha) solo se desecha o se ocupa para alimento animal, por lo que podría tener un uso importante para la extracción de estos fitoestrógenos. Además, de acuerdo a los resultados del presente trabajo y a otras

investigaciones realizadas en *Glicine max* se sabe que el genotipo influye en la concentración de las isoflavonas (Wang y Murphy 1994b; Lee *et al.*, 2003). Por lo que la identificación de algún genotipo de haba con concentraciones adecuadas para el aprovechamiento como fuente de fitoestrógenos, puede ser propuesto como una colecta sobresaliente para ese fin en particular. Al respecto, Anderson *et al.* (1999) mencionan que para ejercer efectos beneficiosos en las células de varios tejidos, las dosis requeridas de IFs son altas (60-100 mg al día), para el tejido cardiovascular y para el tejido óseo de 60 mg al día, mientras que las dosis para síntomas climatéricos es aproximadamente de 20 mg por día.

En esta investigación y en otros trabajos (Chiang *et al.*, 2001; César *et al.*, 2006) se ha observado que la transformación de glucósidos a agliconas (daidzeína, genisteína), forma activa como fitoestrógenos para el organismo, depende de la hidrólisis empleada en la extracción, por lo que se requiere de una hidrólisis efectiva que pueda transformar la mayor cantidad de glucósidos en agliconas (Franke *et al.*, 1994). En este trabajo se encontraron cantidades en un rango menor (35.23 – 60.74 mg kg⁻¹) a las obtenidas en el trabajo de Kaufman *et al.* (1997) en donde el rango fue muy amplio (4.7-1125 mg kg⁻¹), lo cual podría deberse a que son distintos genotipos, y a que las condiciones y los sitios de la siembra fueron diferentes (Wang y Murphy 1994b; Lee *et al.*, 2003). Aunque también se sabe que la concentración final de estos compuestos depende principalmente de una adecuada y óptima extracción. Se recomienda trabajar con más detalle los tiempos de extracción y de hidrólisis para tener una extracción más eficiente y asegurar una mayor cantidad de las agliconas (daidzeína, genisteína).

En las semillas de otras leguminosas, los valores de isoflavonas obtenidos son significativamente más bajos, a los detectados en este trabajo, como es el caso de lenteja verde (daidzeína 5 µg kg⁻¹ y genisteína 6 µg kg⁻¹) y del frijol rojo, (daidzeína 8.3 µg kg⁻¹ y genisteína 13.4 µg kg⁻¹) (Konar *et al.*, 2012). Como ya se ha mencionado hasta ahora la soya es la especie más rica en estos metabolitos y el tallo de haba pudiera ser una alternativa para la extracción de isoflavonas y su posterior consumo.

Daidzeína fue la isoflavona mayoritaria encontrada en este estudio, y se documenta que tiene grandes beneficios como fitoestrógeno. Algunos autores mencionan que este

compuesto puede transformarse en dihidro daidzeína, equol y O-desmetilangolensina por las bacterias intestinales, así con esta estructura química los componentes son más activos biológicamente. Sin embargo, equol se considera aún más activo que su precursor (daidzeína) y el metabolito O-desmetilangolensina, debido a que se le asocia con un menor riesgo de padecer cáncer (Lampe, 2009; Patisaul y Jefferson, 2010). Aunque se necesita un mayor número de estudios que comprueben el efecto beneficioso de equol (Lampe, 2009).

Si bien se habla mucho de los efectos beneficiosos que tienen estos polifenoles (isoflavonas), también se sabe que pueden tener un efecto perjudicial como alteradores endocrinos, por lo que aún sigue siendo complejo saber si proporcionan efectos favorables o desfavorables. Aunque algunos autores refieren que esto depende de la edad, el estado de salud y de una microflora específica intestinal (Patisaul y Jefferson, 2010). Es de sumo interés resolver estas incógnitas principalmente por el gran consumo que se está generando de estas isoflavonas.

2.4 Conclusiones

De acuerdo a los objetivos planteados en la investigación respecto a la evaluación de los componentes nutricionales y/o funcionales en ocho colectas de *Vicia faba* L.; y sobre la hipótesis de que el ambiente, año de colecta y el genotipo tienen alguna influencia en el contenido de aminoácidos, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética en las colectas de haba evaluadas. Se concluye lo siguiente.

Los resultados mostraron variación en los contenidos de proteína, aminoácidos solubles totales y fibra dietética total, lo que comprueba que algunas colectas mexicanas de *Vicia faba* L. contienen altas cantidades de proteína total (25 – 30 %) y fibra dietética total (28 – 33 %).

La mayoría de los resultados mostraron diferencias altamente significativas en el contenido de oligosacáridos (sacarosa y α -oligosacáridos), sin embargo sacarosa fue el principal oligosacárido contenido en el haba. Todas las colectas tuvieron presencia de rafinosa (0.31- 0.39 %), estaquiosa (1.22 – 1.44 %) y verbascosa (1.03 - 1.42 %).

En el tallo de haba de plántulas de mes y medio, se evidenció la presencia y concentración de las isoflavonas genisteína y daidzeína, la suma de ambos fitoestrógenos tuvieron concentraciones de 35.23 – 60.74 mg kg⁻¹. En todas las colectas evaluadas el metabolito que predominó fue daidzeína (34.82 – 59.98 mg kg⁻¹).

Los resultados de los análisis estadísticos *factor ambiente*, *factor año de colecta* y *factor genotipo/ambiente* mostraron que: el ambiente tuvo efecto en los contenidos de algunos de los componentes nutricionales y/o funcionales del haba. La semilla de haba después de seis años de almacenamiento no mostró diferencias en la calidad nutritiva y/o funcional. Para el *factor genotipo/ambiente* se encontraron diferencias altamente significativas. El ambiente Tlachichuca, Puebla, fue más favorable, para propiciar que las colectas de haba tuvieran concentraciones altas de compuestos nutricionales y/o funcionales, respecto a las sembradas en San Cayetano, Cd. Serdán, Puebla.

El análisis de componentes principales y conglomerados de los diferentes factores, mostró agrupaciones de colectas, que se caracterizaron por tener contenidos similares de los componentes estudiados. Por lo que las colectas ya identificadas y caracterizadas sobre los componentes nutricionales y/o funcionales pueden ser designadas para usos diferentes como alimento humano o animal, aporte nutricional y para beneficio en la salud previniendo enfermedades crónicas (como cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares), para la extracción de sus componentes (oligosacáridos, fibra dietética e isoflavonas), en donde la industria los puede utilizar como aditivos para la producción de alimentos o ser adicionados como ingredientes funcionales.

El conocimiento del efecto del ambiente, el genotipo y la interacción genotipo/ambiente para incrementar o disminuir la concentración de los componentes nutricionales y/o funcionales del haba, es una contribución significativa en la planeación de estrategias para el desarrollo agrícola y la seguridad alimentaria. Debido a que hoy en día, no solo hay que considerar las colectas de haba que tengan mayor rendimiento, sino que también tenga una buena calidad nutricional y funcional para el beneficio del consumidor.

Bajo los argumentos mencionados la hipótesis de investigación se acepta.

2.5 Literatura citada

- Anderson, J. J. B., Antony, M. S. (1999), Health potential of soy isoflavonas for menopausal women. *Public Health Nutrition*, 2(4), 489-504.
- Beleggia, R., Platani, C., Nigro F, De Vita, P., Cattielli, L., Papa, R. (2013). Effect of genotype, environment and genotype-by-environment interaction on metabolite profiling in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grain. *Journal of Cereal Science*, 57, 183-192.
- Crittenden, R. G., Playne, M. J. (1996). Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 353-361.
- Duncan, A. M., Phipps, W. R., Kurzer, M. S. (2003). Phyto-estrogenos. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 17(2), 253–271.
- Duranti, M., Gius, C. (1997). Legumes seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Research*, 53, 31- 45.
- Duranti, M. (2006). Review Grain legumes proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.
- Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, H. A. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing; Characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. *Food Chemistry*, 124, 411-421.
- FAO, (1970). Amino-acid content of foods and biological data on protein. En *Food and Agriculture Organization*. Consultada el 12 de septiembre 2015. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/005/AC854T/AC854T00.htm#TOC>
- FAO, Food and Agriculture Organization (2006) Informe Nacional Sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la alimentación. Recursos itogenéticos en México para la Alimentación y la Agricultura. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y Sociedad Mexicana de Fitogenética (SOMEFI), A.C. Chapingo, México. p.172.
- Franke, A. A., Custer, L. J., Cerna, C. M., Narala, K. K. (1994). Quantitation of Phytoestrogens in Legumes by HPLC. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 42, 1905-1913.

- Gangola, M. P., Khedikar, Y. P., Gaur, P. M., Baga, M., Chibbar, R. N. (2013). Genotype and Growing Environment Interaction Shows a Positive Correlation between Substrates of Raffinose Family Oligosaccharides (RFO) Biosynthesis and Their Accumulation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 61 (20), 4943-4952.
- Giczewska, A., Borowska, J. (2003). Nutritional value of broad bean seeds. Part 1: Starch and fiber. *Nahrung/Food*, 47(2), 95-97.
- Geil, P. B., Anderson, J. W. (1994). Nutrition and health implications of dry beans: a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 13, 549–558.
- Graham, T. (1991). Flavonoid and isoflavonoid distribution in developing soybean seedling tissues and in seed and root. *Plant Physiology*, 95, 594-603.
- Herrera-Cabrera BE, Díaz RR, González CF, A Delgado-Alvarado (2006) Diversidad Genética y valor agronómico de haba en la región central de México. Informe Técnico, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Colegio de Postgraduados - Campus Puebla. Puebla, México. p. 96.
- Herrera-Cabrera B.E., Díaz-Ruiz R., Castillo-González F., Delgado-Alvarado A., López-Rodríguez M. 2006. Diversidad genética y valor agronómico de haba en la región central de México. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Informe Final 2000 - 2004. México. pp 1-119.
- Herrera-Cabrera, B. E., Miranda-Trejo, J., Delgado-Alvarado, A., (2011). Conocimiento tradicional y uso de la diversidad de haba. 21-39 pp. *In*: Solano V E., y Mora A R. (editores) Memorias de resúmenes en extenso del 2º Congreso Nacional del Cultivo del Haba. 27 - 29 de octubre de 2011. Universidad Autónoma Chapingo, México. ISBN 978-607-2-0300-7
- Kaufman, P. B., Duke, J. A., Briemann, H., Boik, J., Hoyt, J. E. (1997). A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 1(3), 7-12.
- Kim, E., Lee, O., Kim, J. K., Kim, S., Lee, J., Kim, S., Chung I. (2014). Isoflavones and anthocyanins analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) from three different planting locations in Korea. *Field Crops Research*, 156, 76-83.

- Konar, N., Poyrazoglu, E. S., Demir, K., Artik, N. (2012). Determination of conjugated and free isoflavones in some legumes by LC–MS/MS. *Journal of Food Composition and Analysis*. 25,173–178.
- Kumar, A. Prasad, N.N. and Kumar S. S. (2015). Nutritional and antinutritional attributes of faba bean (*Vicia faba* L.) germplasms growing in Bihar, India *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21, 159 – 162.
- Lampe, J. W. (2009). Is equol the key to the efficacy of soy foods? *American Journal Clinical of Nutrition*, 89 (suppl), 1664S–1667S
- Lee, Y. P., Takahashi, T. (1996). An improved colorimetric determination of amino acids with the use of Ninhydrin. *Analytical Biochemistry*, 14, 71-77.
- Lee, S., Yan, W., Ahn, J. K., Chun, I. M. (2003). Effects of year, site, genotype and their interactions on various soybean isoflavones. *Field Crops Research*, 81, 181-192.
- Maarten, J. C., Sadava, D. E. (1994). Plants and Human Nutrition. En J. C. Maarten, D. 1E. Sadava (coord.), *Plants Genes and Agricultures* (p 94). England: Jones and Bartlett Publishers.
- Madar, Z., Estark, A. H. (2002) New legume sources as therapeutic agents. *British Journal of Nutrition*, 88 (Supp.3), s287-s292.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2008). Alpha-Galactosides: Antinutritional Factor or Functional Ingredients?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 301-316.
- Messina, M. J. (1999). Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *American Journal Clinical Nutrition*, 70, 439S–50S.
- Mussatto, S. I., Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-597.
- Murkies, A. L., Wilcox, G., Davis, S. R. (1998). Phytoestrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 82(2), 297-303.
- Muzquiz, M., Rey, C., Cuadrado, C. (1992). Effect of germination on the oligosaccharide content of lupin species. *Journal of Chromatography*, 607, 349-352.
- Nielsen, S. S. (1998). *Food Analysis, second edition*. EE. UU. Aspen Publisher. p 245.
- NMX-F-068-S-1980. Alimentos. Determinación de Proteínas. Foods. Determination of Proteins. Normas Mexicanas. Dirección General De Normas.

- NMX-F-089-S-1978. Determinación de Extracto Etéreo (Método Soxhlet) En Alimentos. Foodstuff-Determination of Ether Extract (Soxhlet). Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- Patisaul, B. H., Jefferson, W. (2010). The pros and cons of phytoestrogens. *Front Neuroendocrinol*, 31(4), 400-419.
- Roberfroid, M. B. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal Nutrition*, 80, S197–S202.
- Saviranta, N. M.M., Anttonen, M., J., Wright, A., Karjalainen, R. O. (2008). Red clover (*Trifolium pratense* L.) isoflavones: determination of concentrations by plant stage, flower colour, plant part and cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88, 125-132.
- SAS (2002) SAS/STAT User guide, version 9. SAS Institute Inc. North Carolina
- SAS Institute (2003) JMP Statistical, Discovery Software. Versión 5.0.1. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina. USA.
- Silveira, R. M. B., Monereo, M. S., Molina, B. B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos?. *Revista Española de Salud Pública*, 77, 317-331.
- Singh, N., Kaur, M., Sandhu, K. S., Sodhi, N. S. (2004). Physicochemical, cooing and textural characteristics of some Indian black gram (*Phaseolus mungo* L) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 977-982.
- Setchell, K. D. R., Cassidy, A. (1999). Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *American Society for Nutritional Sciences*, 129 (3), 758S- 767S.
- SPSS (2010) Statistical Package for Social Sciences. User's Manual (Versión 19)
- Swennen, K., Courtin, C.M., Delcour, J. A. (2006). Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 459–471.
- Teijón, R. M. J., Garrido, P. A., Villaverde, G. C., Blanco, G. M. D., Mendoza, O. C. y Ramírez, R. J. (2005). Fundamentos de bioquímica estructural. México. Alfaomega. pp 66-67.
- Tahir, M., Lindeboom, N., Baga, M., Vandenberg, A. Chibbar, R. N. (2011). Composition and correlation between major seed constituents in selected lentil (*Lens culinaris*. Medik) genotypes. *Canadian Journals of Plants Science*. 91, 825-835.

- Trinidad, T.P., Millillin, A.C., Loyola, A.S., Sagum, R.S., Encabo, R.R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fiber. *British Journal of Nutrition*, 103, 569-574.
- Tosh, M. T., Yada, S. (2010). Dietary fibres, in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43, 450-460.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sotomayor, C., Díaz-Pollan, C., Fernandez, M., Urbano, G. (1998). Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A*, 207, 140-145.
- Vioque, J., Alaiz, M., Girón-Calle, J. (2012). Nutritional and functional properties of Vicia faba protein isolates and related fractions. *Food Chemistry*, 132, 67–72.
- Wang, H., Murphy, P. A. (1994a). Isoflavone content in commercial soybean foods. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 42, 1666-1673.
- Wang, H., Murphy, P. A. (1994b). Isoflavone Composition of American and Japanese Soybeans in Iowa: Effects of Variety, Crop Year, and Location. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 42, 1674-1677.
- Xioali, X., Liyi, Y., Shuang, H., Wei, Li., Yi, S., Hao, M., Jusong, Z., Xiaoxiong, Z. (2008). Determination of oligosaccharide contents in 19 cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds by high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 111, 215-219.
- Yu, O., Jung, W., Shi, J., Croes, A. R., Fader, M. G., McGonigle, B., Odell, T. J. (2000). Production of the Isoflavones Genistein and Daidzein in Non-Legume Dicot and Monocot Tissues. *American Society of Plant Physiologists*, 124, 781-793.
- Yuan, D., Chen, Y., Bai, X., Pan, Y., Kano, Y. (2006). TLC and HPLC Analysis of Soy Isoflavones in Semen Sojæ Praeparatum. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 1, 3-4.

CAPITULO III. PERCEPCIÓN NUTRICIONAL Y/O FUNCIONAL DEL CONSUMO Y USO DE HABA (*Vicia faba* L.), EN LA COMUNIDAD DE CIUDAD SERDÁN, PUEBLA

3.1 Introducción

Desde la antigüedad los usos de los recursos vegetales para diversos fines, principalmente, medicinal y alimenticio son utilizados entre varias etnias en México (Caballero y Cortés, 2001).

Dentro de los recursos fitogenéticos, las leguminosas, son ampliamente cultivadas en todo el mundo, tienen un papel importante en la dieta de las personas, siendo el segundo alimento de mayor consumo después de los cereales (Singh *et al.*, 2004). Se caracterizan por tener altos contenidos de proteína, y en diversos lugares, las consumen como el único aporte proteico en la alimentación (Duranti y Gius, 1997). Investigaciones recientes mencionan que los componentes que integran a las leguminosas, además de aportar nutrición al consumidor, proporcionan beneficios en la salud. Presentan bajos índices glucémicos, aportan minerales, y algunas semillas tienen efectos hipocolesterolemiantes (Trinidad *et al.*, 2010), además son una fuente rica en fibra dietética y oligosacáridos (Tosh y Yada, 2010), de manera que el consumo frecuente de leguminosas puede ayudar a reducir el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades del tracto digestivo, sobrepeso y obesidad (Duranti, 2006).

El haba (*Vicia faba* L.) es considerada como uno de los alimento que podría ayudar a satisfacer las necesidades nutricionales de la creciente población mundial, no solo por su gran aporte proteico, sino por su alto contenido de fibra y variedad de compuestos bioactivos que pueden mejorar la salud y prevenir enfermedades humanas. También, tienen características agronómicas favorables para abordar los futuros desafíos agrícolas (Multari *et al.*, 2015). Esta especie ha generado un segundo centro de diversidad genética en México a pesar de no ser un cultivo nativo (FAO, 2006). Su desarrollo se encuentra predominante en la región de los Valles Altos de la Mesa Central de México (ASERCA, 2001; ICAMEX, 2009), situando en esta zona al estado de Puebla (ASERCA, 2001), que de acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera

(SIAP, 2014), es uno de los tres estados de mayor producción de haba (verde y en grano) a nivel nacional, y se posiciona en primer lugar como productor de grano. Entre los municipios de Puebla, Chalchicomula de Sesma, conocido como Ciudad Serdán (cabecera municipal), destaca por ser uno de los municipios de mayor producción de haba en el estado (SIAP, 2014).

Orozco *et al.* (2013) evaluaron características agronómicas en colectas de haba pertenecientes al estado de México, y encontraron que algunas cuentan con características fenotípicas sobresalientes. Sin embargo, en México se desconoce la composición química nutricional de *Vicia faba* L., y se ignora la opinión de los agricultores sobre las colectas que siembran y el uso de las mismas. Como parte de una estrategia de desarrollo agrícola regional en esta especie, se necesita realizar estudios multidisciplinarios, donde en conjunto potencialicen la producción, venta y consumo de haba, considerando además que sea un alimento benéfico y agradable para el consumidor. Así que, integrar en una investigación el área agronómica, química (composición), social, entre otras, podría ser el inicio para una estrategia de desarrollo del cultivo de haba, en las áreas donde se cultiva actualmente y en otras regiones aptas para el cultivo.

Bajo el contexto anterior, y la limitada investigación de haba respecto a la composición química y percepción social; en el capítulo II, se mostraron los resultados de los componentes nutricionales y/o funcionales de colectas de haba pertenecientes a los principales estados productores de México, en el capítulo III, se presentan los resultados obtenidos respecto a la opinión de los productores que siembran haba, sobre el consumo y uso de las variedades que cultivan. Y a pesar de que se han realizado investigaciones donde se considera el haba como alimento funcional (Duranti, 2006; Multari *et al.*, 2015), se desconoce si los productores que siembran haba, conocen el aporte nutricional de la misma al consumirla en sus diferentes modalidades, en verde (grano fresco) y seco (grano). Por lo que el objetivo de este capítulo fue conocer la opinión de los productores de haba de la comunidad de Ciudad Serdán sobre el consumo y uso de las variedades que cultivan, para tener evidencia empírica sobre el aporte nutritivo y/o funcional que el haba les proporciona al ser consumida.

3.2 Metodología

Se realizó una investigación cuantitativa y descriptiva mediante el apoyo de un cuestionario que consideró preguntas cerradas y abiertas (Herrera *et al.*, 2002; Díaz-Bautista y Herrera-Cabrera, 2004), para captar información sobre el conocimiento que tienen los productores del cultivo de haba, en la comunidad de Ciudad Serdán perteneciente al municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.

Entrevista

Las entrevistas se realizaron a partir de un cuestionario que incluyó cinco apartados: 1. Datos personales de los entrevistados, 2. Conocimiento general del cultivo, 3. Manejo y consumo del haba, 4. Almacenamiento del haba y 5. Conocimiento sobre enfermedades que el haba puede ayudar a prevenir en el humano (Anexo 3.1A). Esto permitió captar la información suficiente para cumplir con el objetivo de la investigación, así como la verificación de la hipótesis.

Selección de productores

La población objetivo fueron productores de haba que por lo menos tenían diez años sembrando el cultivo. El estudio fue dirigido y se utilizó la técnica bola de nieve para aplicar el cuestionario, de acuerdo a Perrelló (2009), quien menciona que las unidades muestrales van escogiéndose a partir de referencias aportadas por los sujetos a los que ya se ha accedido, es decir, el primer entrevistado refiere a otro, y éste al siguiente, y así sucesivamente hasta terminar la muestra. Durante la entrevista, en algunos casos, se involucró a la esposa del productor, lo que permitió retroalimentar la información requerida en el estudio. De esta forma se seleccionaron 21 productores de haba. En el Anexo 3.2A se muestran algunas de los productores entrevistados.

Análisis de la información

La información obtenida de los productores entrevistados por medio de los cuestionarios, se codificó, se construyó la base de datos en Excel y se capturó la información respectiva. Para el caso de las preguntas abiertas que contenía el cuestionario, se categorizaron para codificar las respuestas y posteriormente capturarlas en la base de datos de Excel. La base de datos de Excel, se exportó al paquete estadístico SPSS (2010) versión 19,

para realizar un análisis descriptivo (medias, frecuencias, porcentajes) de la información empírica captada de los productores de haba entrevistados. La descripción de los resultados se realizó mediante gráficas de frecuencia, medias y porcentajes; así como la concentración de variables por medio de cuadros.

3.3 Resultados y discusión

Datos personales de los entrevistados

Se realizaron 21 entrevistas a productores de haba de entre 44 - 89 años de edad, con un promedio de 61.14 años, cuya ocupación principal declarada fue la de ser campesinos. Los entrevistados fueron de diferente grado de escolaridad, 14.28 % no cuentan con educación, 71.42 % tienen solo educación básica (solo once la terminaron), 9.52 % tienen secundaria y, solo 4.76 % de ellos tiene carrera técnica (bachillerato). El tiempo que los productores llevan cultivando el haba se encuentra entre 10-70 años, con una media de 30 años.

Conocimiento general del cultivo

Las diferentes variedades de haba en los Llanos de Serdán Puebla, está representada por criolla amarilla, tarragona, parraleña, mestiza, blanca y morada; entre estas, solo algunas variedades criollas responden a las necesidades de los sistemas de producción más tradicionales, y otras, a las expectativas de los agricultores con mayor interacción con el mercado (Herrera-Cabrera *et al.*, 2011). De los entrevistados una parte (14.28 %) conoce tres variedades de haba, 19.05 % cuatro variedades, 33.33 % cinco variedades y 33.33 % seis. Se destaca la variedad criolla amarilla, seguido de la blanca, tarragona, morada, parraleña y cochinerita (Figura 3.1). Sin embargo, a pesar de que los productores conocen diversas variedades de haba, la mayoría (61.90 %) siembra solo una variedad (criolla amarilla), otra parte (23.80 %) siembra dos (entre estas pueden ser, blanca, criolla amarilla y tarragona), 9.52 % siembra tres, (ya sea, blanca, morada, tarragona y parraleña) y la mínima parte (4.76 %) siembra cuatro de ellas (criolla amarilla, blanca, morada y parraleña) (Figura 3.1).

La razón por la que la mayoría de los productores sólo siembran la variedad criolla amarilla, es porque es una haba de grano mediano, de cascará y semilla amarilla, y

tradicionalmente se ha cultivado para comercializar. Y aunque, algunos productores siembran otras variedades de haba diferente de la criolla amarilla, las cuales se distinguen sólo por la coloración de la cáscara, ya que cuando se descascaran todas tienen una apariencia similar, excepto, la variedad blanca (la semilla es blanca, tanto en la cáscara como en la semilla descascarada); pero algunos de los entrevistados explicaron que como la venta del haba es principalmente del grano descascarado, estas variedades se combinan y se comercializan sin que el comprador tenga alguna objeción por la semilla.

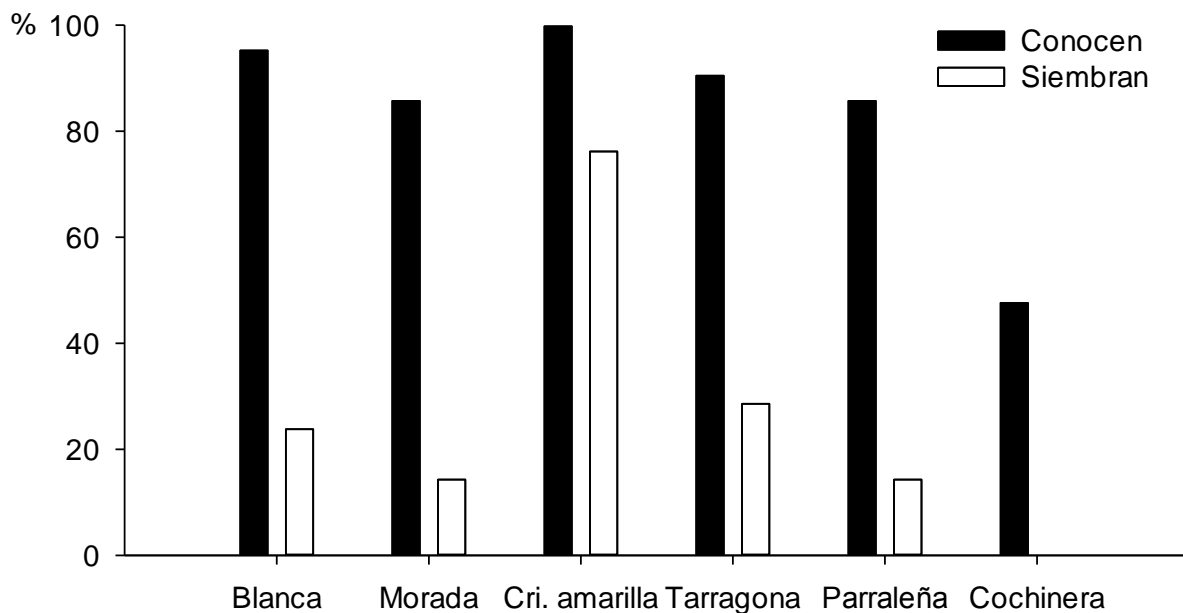


Figura 3.1 Variedades de haba que los productores conocen y siembran en la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.

La Figura 3.2, muestra la opinión de los entrevistados sobre las características que tiene su mejor haba; todos opinaron que la principal característica es que debe tener buen sabor, seguido de dureza suave (no muy dura) (85.71 %), después con tiempo de cocimiento rápido (80.95 %) y finalmente respecto al tamaño de la semilla, 61.90 % de los productores opinó que deba ser de tamaño mediano.

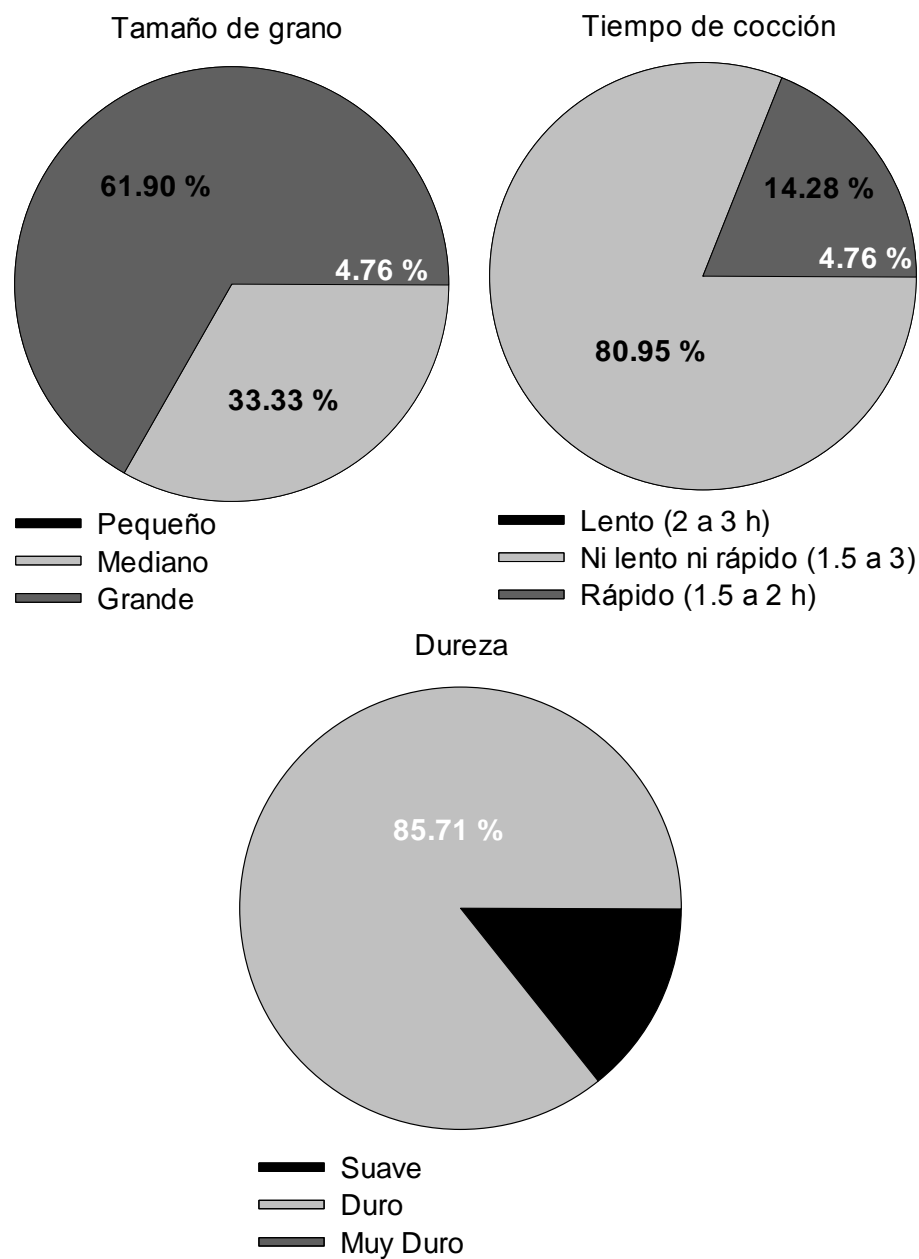


Figura 3.2 Principales características que el productor mencionó que tiene su mejor haba.

Los productores siembran el haba entre los meses de Febrero - Marzo y la cosechan entre Octubre - Noviembre. El cultivo se realiza en temporal. Las habas que siembran y cosechan los productores, las destinan para algún tipo de uso; en el Cuadro 3.1, se observa que el principal uso que le dan al grano es para consumo humano y para la venta. Para este propósito el grano es el de mejor apariencia y de buen tamaño. Para

alimento animal, solo ocupan grano pequeño y manchado, el que no se destina para la venta.

Cuadro 3.1 Uso del haba que le da el productor.

Uso del haba	%
Alimento animal	52.39
Alimento humano	100
Venta	100

Numeró de entrevistados 21.

Manejo y consumo del haba

El haba se consume en estado fresco (en verde) y seco (como grano). Todos los productores dijeron que les gusta comer haba, las razones que mencionaron fueron; 66.66 % por sabor, 14.28 % por tradición y el resto (19.05%) por ser un alimento.

A las leguminosas se les considera alimento ideal para el consumo humano por ser una rica fuente de proteína, además, contribuyen a la nutrición de personas de escasos recursos por ser su principal aporte proteico en lugar de la carne (Tharanathan y Mahadevamma, 2003). El grano de haba tiene un alto valor proteico en comparación con otros alimentos consumidos en México como el frijol y el maíz, de ahí su importancia en la alimentación humana (ASERCA, 2001).

Se detectó que la mayoría (85.71 %) de los productores consideran que el haba les proporciona un beneficio nutrimental, y los demás (14.28 %) mencionaron que no tenían algún conocimiento al respecto. El mayor porcentaje de los productores (66.66 %) cree que el haba le aporta energía para realizar sus actividades diarias; porque son nutritivas y contienen proteínas. El resto (33.33 %) indicó no tener algún conocimiento al respecto, ya que no es algo que perciban o distingan.

La frecuencia de consumo de haba es baja, ya que la mayoría de los entrevistados (38.10 %) respondió una vez al mes (Figura 3.3). Sin embargo, cuando es en temporada de semana Santa y en la cosecha, la mayoría (80.95 %) de los entrevistados mencionó que suelen consumirla de una a tres veces por semana.

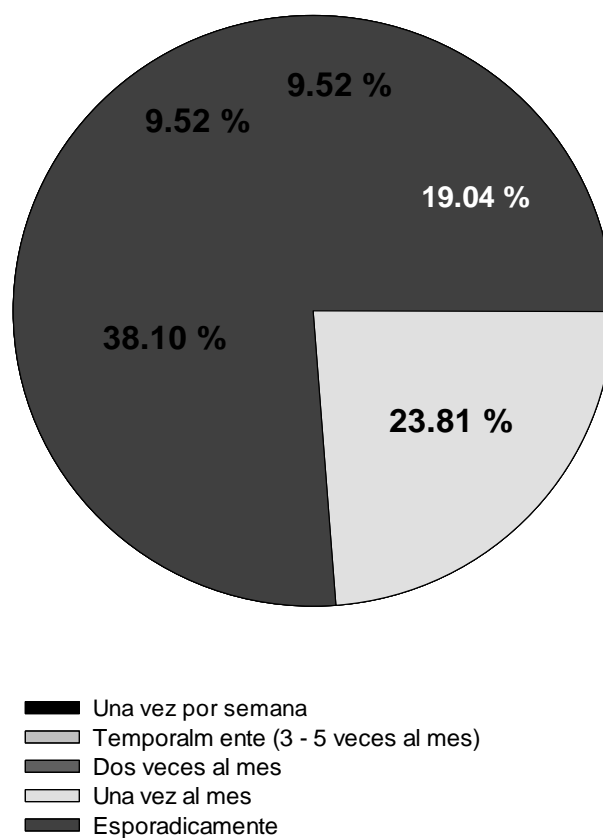


Figura 3.3 Frecuencia del consumo de haba de los productores de la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.

Por otra parte, respecto a los miembros de la familia que consumen haba, la minoría (9.52 %) de los entrevistados mencionaron que solo los adultos y los ancianos consumen haba en casa, porque a los niños no les agrada, mientras que la mayoría (90.48 %) indicó que la consumen todos en la familia (niños, adultos y ancianos). Lo anterior contrasta con las dietas en las ciudades, donde las dietas se basan en productos de origen animal y procesados, y escasean alimentos naturales, este cambio de hábitos alimenticios ha provocado el inicio de una serie de enfermedades que son ocasionadas principalmente por la falta de nutrientes y fibra, y un consumo excesivo de grasas y azúcares. Lo preocupante de estos padecimientos es que no solo se presentan en adultos mayores, sino en jóvenes y niños (Gil y Sánchez de Medina, 2010).

El Cuadro 3.2 muestra la preferencia que tiene el productor por el consumo de haba en verde o como grano, destaca que la mayor parte (47.62 %) de los entrevistados le gusta consumir el haba de ambas maneras, mientras que el resto, sí tiene alguna predilección. Los productores argumentaron que el sabor es un factor importante para su preferencia y la parte nutritiva no suele ser algo fundamental para su elección (Cuadro 2).

Cuadro 3.2 Preferencia de como consumen el haba.

¿Cómo prefiere consumir el haba?	%
Verde (fresco)	42.86
Grano (seco)	9.52
Ambas (verde y grano)	47.62
¿Por qué prefieren consumir de esa manera el haba?	%
Sabor	85.71
Tradicición	23.80
Textura	19.04
Gusto	14.28
Nutritivas	9.52
Antojo	4.76

Número de entrevistados 21.

El Cuadro 3.3 presenta los resultados del consumo del haba con otros alimentos. Una parte de ellos (33.33 %) lo hace con cereales, principalmente arroz; la mayoría (90.47 %) lo hace con carne, destacando el pollo y la carne de res; y con verduras, también un alto porcentaje (85.71 %) de los entrevistados afirmó consumir las habas con nopales, calabaza y chicharos, entre otros. Esta combinación de leguminosa con otros alimentos que también son fuente de nutrientes y energía, ayuda a complementar la alimentación diaria de las familias de los productores de haba.

Cuadro 3.3 Consumo de haba con otros alimentos.

Cereales	Consume	%
	Si	33.33
	No	66.67
Carne	%	
	Si	90.47
	No	9.53
Vegetales	%	
	Si	85.71
	No	14.29

Número de entrevistados 21.

De los guisos o platillos que preparan con haba verde, de diez que se mencionaron, sobresalen, habas hervidas y molitos (guisado de salsa, verde o rojo). Mientras que cuando consumen haba seca, de ocho guisos que comentaron, los que destacaron fueron Xolostle (guiso tradicional de habas con epazote), habas con nopales y tortita de haba con o sin camarón. El haba de manera procesada, sólo se consume como botana.

Las leguminosas son una excelente fuente de fibra dietética (FD), estudios demuestran que la FD proporciona ciertos beneficios para quienes la consuman (Tosh y Yada, 2010). La carencia de ésta puede influir en contraer enfermedades graves (Gil y Sánchez de Medina, 2010). La FD en la ingesta del hombre ayuda a disminuir los niveles de colesterol; reduce el riesgo de contraer enfermedades del corazón, disminuye la glucosa en la sangre y normaliza los niveles de insulina; beneficiando de esa manera a los enfermos que padecen diabetes. También evita la obesidad; ya que induce el gusto de saciedad provocando un menor consumo de energía, ayuda a mejorar la función del intestino grueso en la digestión y a prevenir algunas formas de cáncer (Burton, 2000; Tosh y Yada, 2010). El Estudio Prospectivo Europeo sobre Cáncer y Nutrición (EPIC), agencia dedicada a investigaciones sobre el cáncer, avalada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha demostrado que el consumo de 35 g de fibra al día reduce hasta 40 % el riesgo de contraer cáncer de colon, por lo que es necesario incrementar el consumo de importantes fuentes de fibra (IARC, 2003). Con base en lo anterior, las

personas que consumen leguminosas sin cáscara, pierden una cantidad importante de fibra dietética que puede ayudar a reducir el riesgo de contraer enfermedades graves. El Cuadro 3.4, presenta cinco maneras de como el productor consume haba, y si ésta, es consumida con o sin cáscara. El haba de forma hervida y tostada, muestran el porcentaje más alto de consumo con cáscara (61.90 y 57.14 %, respectivamente), mientras que la harina de haba suele consumirse principalmente sin cáscara (90.48 %) (Cuadro 4). Los argumentos recibidos del porque consumen haba con o sin cáscara fueron; que de esa manera les gusta consumir haba, porque tradicionalmente el platillo se cocina de esa forma y, así tiene un mejor sabor.

Cuadro 3.4 Consumo de haba con o sin cáscara en la comunidad de Ciudad Serdán, municipio de Chalchicomula de Sesma, Puebla.

Forma de consumo	Con cáscara (%)	Sin cáscara (%)	Ambas maneras (%)	No consume haba de esa forma (%)
Cocida en caldo	23.80	52.38	23.81	-
Frita	28.57	9.52	-	61.9
Hervida	61.90	33.33	4.76	-
Tostada	57.14	28.57	-	14.28
Harina	4.76	90.48	4.76	-

Número de entrevistados 21.

Los oligosacáridos de la familia de la rafinosa (OFR) son azúcares que se encuentran principalmente en las leguminosas y son comúnmente conocidos por ser productores de gases intestinales en el ser humano; es decir, su consumo causa flatulencia (Valdés, 2006), debido a que los humanos y los animales monogástricos carecen de la enzima que hidroliza a los OFR (α -galactosidasa), por lo que pasan a través del estómago sin ser digeridos (Valdés, 2006; Tahir *et al.*, 2011). Altas concentraciones de OFR presentes en los alimentos son considerados antinutricionales, ya que tienen efectos negativos como flatulencia, reducción de la energía neta dietética, e interferencia en la absorción de nutrientes en el intestino (Martínez-Villanueva *et al.*, 2008). También el consumo de alimentos con altas cantidades ($\text{OFR} > 3 \text{ g d}^{-1}$) podría causar dolores abdominales, diarrea y molestias dependiendo de la sensibilidad de cada individuo (Tahir *et al.*, 2011).

A pesar de que estos carbohidratos no son favorables en el organismo, se han encontrado causas positivas cuando se ingieren en bajas concentraciones; algunos tienen un efecto prebiótico, siendo el sustrato trófico del probiótico, los cuales, no son digeribles por el hombre, pero benefician al huésped estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o actividad de bifidobacterias y lactobacilos, por lo que influyen positivamente en las células intestinales y el sistema inmune (Roberfroid, 1998; Swennen *et al.*, 2006; Mussatto y Mancilha, 2007).

El Cuadro 3.5 muestra los resultados de las preguntas relacionadas con los síntomas ocasionados por el consumo de haba. Una parte (28.57 %) de los entrevistados afirmó que cuando la consumen se sienten aventados (con gases o malestar en el estómago). Las causas que le atribuyen a este malestar es, por comer en exceso y porque es un alimento frío que cae pesado al estómago. Otro grupo (38.09 %) refirió que no siempre se sienten aventados, sólo a veces, principalmente cuando el haba se consume como grano seco, por comer en exceso, o cuando tienen problemas estomacales. El resto de los entrevistados (33.33 %) dijo no sentir gases en el estómago, una de las razones es porque están acostumbrados a consumirlas. Respecto a la forma que les causa malestar estomacal, la mayoría (42.86 %) percibe que cuando consume grano de haba provoca más gases en el estómago que cuando se consume en verde. Martínez-Villaluenga (2005) menciona que los OFR (azúcares que provocan la flatulencia) se forman durante la maduración de la semilla, lo que coincide con lo que mencionaron los entrevistados.

Cuando se consume haba en exceso, la mayoría opino (52.38%) que hay síntoma de dolor de estómago y exceso de gases, aunque otro grupo importante (33.33 %) describió que no percibe ningún síntoma (Cuadro 3.5).

Almacenamiento del haba

La literatura documentada hasta ahora no describe sobre estudios que evidencien el efecto de almacenamiento por periodos de varios años sobre los componentes nutricionales y/o funcionales del haba. Al respecto, en el capítulo II de esta investigación se evidencia qué compuestos como proteína, oligosacáridos, fibra dietética total, aminoácidos solubles totales y oligosacáridos, se mantienen estables hasta después de 6 años de almacenamiento. De manera que durante este tiempo, los componentes

nutricionales y funcionales pueden seguir beneficiando al consumidor, pero respecto a las características físicas y paliativas del haba, se desconoce que pasa al respecto, no hay estudios documentados sobre el caso. Es importante tener este tipo de conocimiento para garantizar la calidad del alimento para el consumidor. Todos los entrevistados almacenan el haba que cultivan de 3 - 72 meses, con un promedio de 20.80 meses. Este tiempo va a depender del precio del haba (si es favorable o no para vender) y de la producción obtenida. Todos almacenan el grano de haba de una manera similar; en un cuarto cerrado a granel o en sacos de ixtle en la casa del productor.

En la Figura 3.4, se muestra las diferencias que los productores detectan entre el consumo de haba recién cosechada y el haba almacenada.

Cuadro 3.5 Síntomas provocados por el consumo de haba.

Preguntas	%
I. ¿Cuándo consumen habas, se sienten con gases y malestar estomacal?	
Sí	28.57
No	33.33
A veces	38.09
II. ¿Cuándo consume habas, en qué forma le causa más malestar estomacal?	
Verde (fresco)	23.80
Grano (seco)	42.86
Desconoce si es en verde o grano	33.33
III. Cuándo consume haba en exceso, ¿qué síntomas siente?	
Exceso de gases y dolor de estomago	52.38
Indigesto (problemas de digestión)	9.52
Se suelta del estomago	4.76
Ningún síntoma	33.33

Numeró de entrevistados 21.

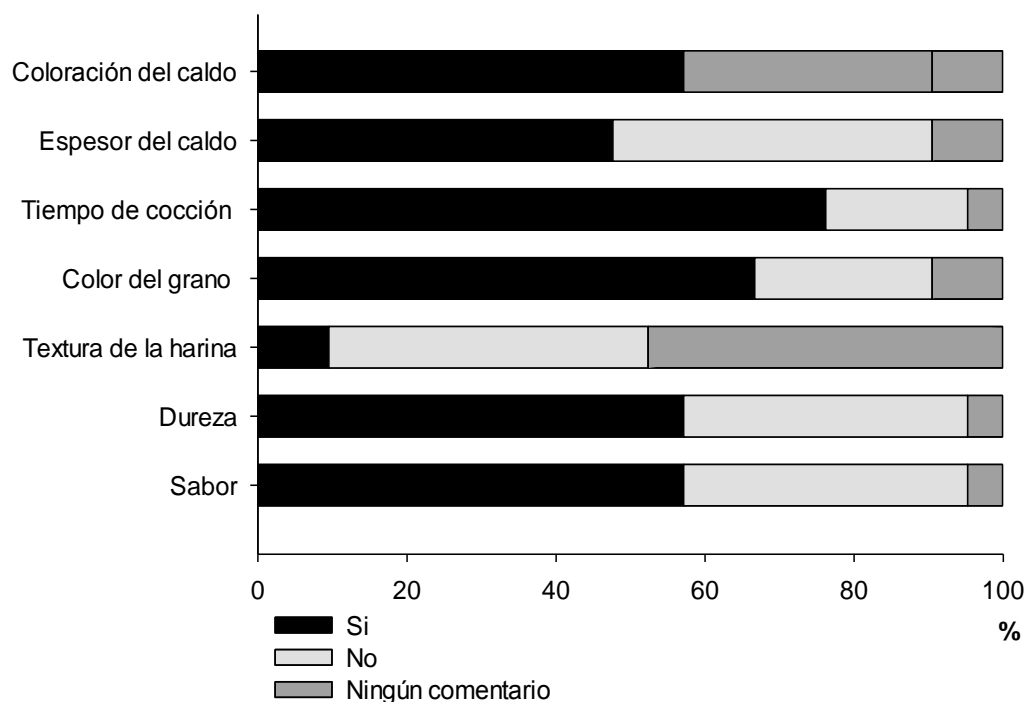


Figura 3.4 Percepción de los productores sobre el consumo de haba recién cosechada y el haba almacenada.

Respecto al sabor, 57.14 % sí detecta diferencia, entre los comentarios que mencionaron, fue que las habas recién cosechadas tienen mejor sabor, las almacenadas se vuelven agrias (Figura 3.4). En dureza, la mayoría (57.14 %) detecta diferencia, aunque se tuvieron ideas encontradas, algunos mencionaron que por el añejamiento se endurecen, y otros dijeron que se reblandecen, sin embargo, el primer argumento tuvo mayor frecuencia de opiniones. En textura de la harina, sólo un bajo porcentaje (9.52 %) encuentra alguna diferencia, argumentando que la harina del haba recién cosechada es más porosa. Color del grano, la mayoría (66.66 %) afirmó notar diferencia, señalaron que se oscurece la cáscara. Tiempo de cocción, la mayor parte (76.19 %) nota diferencias, y algunos mencionaron que las habas almacenadas tardan más en cocerse. Espesor del caldo, menos de la mitad (47.61 %) notó diferencias, aunque las opiniones fueron encontradas, algunos atribuyeron que el caldo de las habas almacenadas tiene mayor espesor y otros dijeron que no espesa bien. Coloración del caldo, solo una parte (33.33 %) nota diferencias, algunos indicaron que el caldo hecho con haba almacenada, se oscurece. La respuesta en la Figura 3.4 de ningún comentario, se atribuye a que el

entrevistado no ha percibido o no ha puesto atención en las diferentes características descritas anteriormente.

Con base en las opiniones recibidas por los productores se puede comentar que también es importante tomar en cuenta las características paliativas, táctiles y visibles para una mejor calidad del grano. Principalmente cuando se trate de impulsar un programa de mejoramiento genético del haba.

Conocimiento sobre enfermedades que el haba puede ayudar a prevenir

Algunos estudios han demostrado en haba la presencia de L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), aminoácido que tiene un papel fundamental como tratamiento en la enfermedad de Parkinson (Ramya y Thaakur, 2007; García, 2011; Multari *et al.*, 2015).

La mayoría (71.43 %) de los entrevistados mencionó que no sabe o ha escuchado que el haba se utilice para tratar alguna enfermedad en humanos, solo un bajo porcentaje (4.76 %) ha escuchado que sirve para el tratamiento del mal de Párkinson. Otros comentaron (23.80 %) que no atribuyen propiedades al haba para tratar enfermedades; sin embargo, si tienen conocimiento de que se utiliza para aliviar algunos malestares, entre estos, las habas se chupan en seco para evitar las agruras, el polvo del grano de haba es utilizado como secante para curar las heridas provocadas por el sarampión y la rubiola, o el grano de haba se abre a la mitad y se coloca en las sienes para el dolor de cabeza.

Cuando se cuestionó a los productores sobre la presencia de enfermedades o síntomas como cáncer, osteoporosis, diabetes, estreñimiento, estómago (dolor, inflamación o gases estomacales) o Párkinson; algunos (33.3 %) de los entrevistados dijeron que ningún integrante de su familia padecía alguna de éstas enfermedades, pero la mayoría (66.7 %) expuso que sí, predominando; la diabetes, el estreñimiento, estómago y osteoporosis. De los entrevistados, ninguno afirmó que padeciera de temblor en sus manos (Párkinson), o cáncer. La mayor parte (57.1 %) de los productores mencionó que no padece de estreñimiento, y los demás sí. Las principales causas a las que atribuyen este padecimiento son por estrés, por tomar poca agua, porque el consumo de verduras es bajo, por tener edad avanzada, y porque tuvieron alguna cirugía

(operación). Un bajo número (14.3 %) de entrevistados opinó que no tiene conocimiento sobre si el exceso de consumo de haba provoca alguna enfermedad. El 85.8 % asegura que no provoca ningún tipo de enfermedad; sin embargo, algunos mencionaron que no causa enfermedad, pero sí inflama y cae pesado al estómago.

En la Figura 3.5 se observa la opinión de los productores sobre si el haba beneficia o no en la salud. Aunque la mayoría de los entrevistados (57.1 %) desconoce si el haba tiene algún beneficio en la salud, algunos (28.6 %) piensan que el consumir haba influye en su salud, evita tener alguna enfermedad o síntoma; pero desconocen cuál sería esa enfermedad. De este porcentaje, 23.8 % indicó que el motivo por el cual creen que es beneficioso comer habas, es por qué lo consideran como un alimento nutritivo.

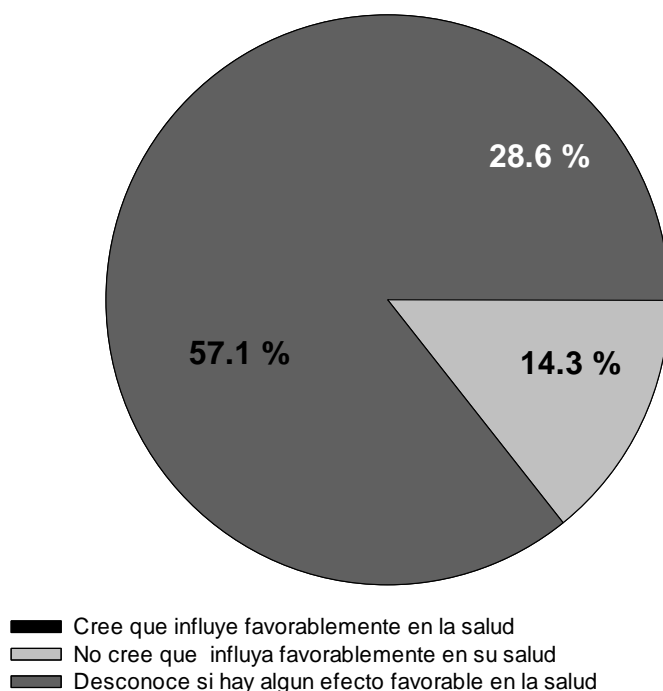


Figura 3.5 Opinión de los productores de haba sobre sí el consumo influye en la salud para evitar tener alguna enfermedad o síntoma.

3.4 Conclusiones

Con base en los resultados encontrados para cumplir con el objetivo de conocer la opinión de los productores de haba sobre el consumo y uso de las variedades que

cultivan de la comunidad de Ciudad Serdán, con el propósito de tener evidencia empírica sobre el aporte nutritivo y/o funcional que el haba les proporciona al ser consumida. Basado en la hipótesis de que los productores de la comunidad de Ciudad Serdán, Puebla, tienen conocimiento sobre las características y usos del haba, pero desconocen el valor nutricional y/o funcional que provee al ser consumida. A continuación se plantean las siguientes conclusiones.

Los productores entrevistados de la comunidad de Ciudad Serdán que cultivan haba en promedio llevan realizando esta actividad 30 años; y aunque conocen seis variedades (blanca, morada, criolla amarilla, tarragona, parraleña y cochinera), la mayoría sólo siembra la criolla amarilla, por ser la variedad que tradicionalmente cultivan y comercializan.

El haba que los agricultores por lo regular, consumen una vez al mes, tiene las siguientes características; tamaño mediano, cocimiento rápido (1.5 a 2 h), sabor bueno y dureza suave.

Entre los usos que los productores le dan al haba, destaca el consumo humano y para la venta. Se consume tanto en verde como en grano, no hay preferencia por el consumo de una u otra forma; sin embargo, el sabor, la textura y el gusto son características importantes para su elección.

Los entrevistados detectan ciertos efectos producidos por la ingesta de haba, como la flatulencia y malestar estomacal provocados por los azúcares que contiene. También perciben diferencias en características paliativas (sabor, espesor), táctiles (textura, dureza) y visibles (coloración) entre el consumo de haba recién cosechada y el haba almacenada.

La mayoría de los entrevistados mencionó, que el consumo de haba les aporta un beneficio nutrimental y que les suministra energía al cuerpo; pero ignoran los beneficios que les provee a la salud.

Los productores necesitan mayor información sobre las propiedades nutricionales y nutraceuticas que *Vicia faba* L. les puede aportar, como una estrategia para fomentar el

aumento del consumo de haba que favorezca la nutrición y salud de las familias campesinas de la comunidad de estudio.

Bajo los argumentos mencionados la hipótesis de investigación se acepta.

3.5 Literatura citada

ASERCA, Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (2001), Claridades Agropecuarias Órgano Desconcentrado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2116-102. México D.F. pp.1-4.

Burton, B. F. (2000). Dietary Fiber and Energy Regulation. *Journal of Nutrition*, 130, 272S–275S.

Caballero, N. J., Cortés L. (2001). Percepción, uso y manejo tradicional de los recursos vegetales en México. En *Plantas, cultura y sociedad* (pp 79-100). Universidad Autónoma Metropolitana: México.

Díaz-Bautista, M. y Herrera-Cabrera E. (2004). Caracteres morfológicos en la selección de semilla de haba en la sierra norte de Puebla. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27, 49 – 52.

Duranti, M., Gius, C. (1997). Legumes seeds: protein content and nutritional value. *Field Crops Research*, 53, 31- 45.

Duranti, M. (2006). Review Grain legumes proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77, 67-82.

FAO, (2006). Informe Nacional Sobre el Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la alimentación, México. En *Food and Agriculture Organization*. Consultada el 20 de noviembre de 2014. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/013/i1500e/mexico.pdf>

Gil, H. A. y Sánchez de Medina, C. F. (2010) *Tratado de Nutrición. Tomo 1, Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición*. 2da Edición. Editorial Medica Panamericana. Madrid.

García, S. I (2011) Variación en el contenido de L-Dopa y compuestos fenólicos durante el desarrollo de Semilla de *Vicia faba* L. (Tesis de maestría) México, Puebla. Colegio de Posgraduados (COLPOS).

- Herrera, C. B. E., Macías-López, A., Díaz, R. R., Valadez, R. M. y Delgado, A. A. (2002). Uso de semilla criolla y caracteres de mazorca para la selección de semilla de maíz en México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25, 17 – 23.
- Herrera-Cabrera, B. E., Miranda-Trejo, J., Delgado-Alvarado, A., (2011). Conocimiento tradicional y uso de la diversidad de haba. 2do Congreso del cultivo de haba. Efectuado del 27-29 de Octubre del 2011.
- IARC, (2003). High fiber diet reduces colorectal cancer risk. En *International Agency for Research on Cancer*. Consultada el 13 de febrero de 2015. Disponible en <http://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2003/pr146.html>
- ICAMEX, (2009). Tecnologías de producción del cultivo de haba. *Instituto de investigación y Capacitación Agropecuaria Acuícola y Forestal del Estado de México* MC. Mario López Rodríguez. Consultada en agosto 2015. Disponible en: http://portal2.edomex.gob.mx/icamex/investigacion_publicaciones/horticola/haba/index.htm
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2005). Rafinose family oligosaccharides and sucrose contents in 13 Spanish lupin cultivars. *Food Chemistry*, 91, 645-649.
- Martínez-Villaluenga, C., Frias, J., Vidal-Valverde, C. (2008). Alpha-Galactosides: Antinutritional Factor or Functional Ingredients?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48, 301-316.
- Multari S., Stewart D. and W. R. Russell (2015) Potential of fava bean as future protein supply to partially replace meat intake in the human diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14, 511-522.
- Mussatto, S. I., Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68, 587-597.
- Orozco C. N., Pérez L. D. de J., González H. A., Franco M. O., Gutiérrez R. F., Rubí A. M., Castañeda V. Á. y Balbuena A. M. (2013). Identificación de poblaciones sobresalientes de haba colectadas en el Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(6), 921-932.
- Perrelló, O., S. (2009). *Metodología de la investigación social*. (1ra ed.). España; Dykinson, S. L.

- Ramya, K. B., Thaakur, S. (2007). Herbs containing L- DOPA: an update. *Anc Sci Life*, 27, 50–55.
- Roberfroid, M. B. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal Nutrition*, 80, S197–S202.
- SIAP, (2014). Cierre de la producción agrícola por estado. En *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Consultada el 20 mayo de 2015. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Singh, N., Kaur, M., Sandhu, K. S., Sodhi, N. S. (2004). Physicochemical, cooking and textural characteristics of some Indian black gram (*Phaseolus mungo* L) varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 977-982.
- Swennen, K., Courtin, C.M., Delcour, J. A. (2006). Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 459–471.
- SPSS (2010) Statistical Package for Social Sciences. User's Manual (Versión 19)
- Tahir, M., Lindeboom, N., Baga, M., Vandenberg, A., Chibbar, R. N. (2011). Composition and correlation between major seed constituents in selected lentil (*Lens culinaris*. Medik) genotypes. *Canadian Journals of Plant Science*, 91, 825-835.
- Trinidad, T. P., Millillin, A. C., Loyola, A. S., Sagum, R. S., Encabo, R. R. (2010). The potential health benefits of legumes as a good source of dietary fiber. *British Journal of Nutrition*, 103, 569-574.
- Tosh, M. T., Yada, S. (2010). Dietary fibres, in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, 43, 450-460.
- Valdés, M. S. E. (2006). Hidratos de carbono. En S. Badui (coord.), *Química de los alimentos cuarta edición* (pp.54-55, 107-108) México: Pearson educación.

CONCLUSIONES GENERALES

Con base en las hipótesis de trabajo planteadas en la presente investigación acerca de que: el ambiente, año de colecta y el genotipo tienen alguna influencia en el contenido de aminoácidos, oligosacáridos, isoflavonas y fibra dietética en las colectas de haba evaluadas, y de que los productores de la comunidad de Ciudad Serdán, Puebla, tienen conocimiento sobre las características y usos del haba, pero desconocen el valor nutricional y/o funcional que provee al ser consumida, se establecen las siguientes conclusiones:

Las ocho colectas (C-89, C-93, C-146, 160, C-181, C-281, C-288 y C-Zac22) de haba pertenecientes a los principales estados productores de México (Estado de México, Puebla y Tlaxcala) tuvieron una amplia variación en los contenidos de componentes considerados nutricionales y/o funcionales.

El contenido de proteína total (24.59 - 29.80 %) y aminoácidos solubles totales (411.86 - 677.28 mg 100 g⁻¹) fueron altos en comparación con datos reportados en esta especie.

La fibra dietética total en la harina del haba tuvo valores altos (28.44 - 32.08 %), en comparación con la harina de otras leguminosas como lenteja (18 – 20 %) y garbanzo (18 – 22 %), lo cual es de importancia dado que su consumo mejora o previene enfermedades principalmente del aparato digestivo.

El contenido de α -oligosacáridos tuvo variaciones en rafinosa (0.31 – 0.39 %), estaquiosa (1.22 – 1.44 %) y verbascosa (1.03 - 1.42 %), que son causantes de flatulencia y malestares estomacales en el organismo de humanos y animales, pero su consumo en pequeñas cantidades tiene beneficios en la flora intestinal, lo que genera beneficios en la salud. La sacarosa fue el azúcar que predominó (2.48 - 3.5 %).

En tallos de haba se evidenció la presencia de las isoflavonas genisteína y daidzeína; metabolitos considerados fitoestrógenos por su capacidad de actuar como estrógeno en el organismo humano. Las concentraciones en las que se encontraron estuvieron en un rango de 0.30 – 0.85 mg kg⁻¹ para genisteína y de 34.82 – 59.98 mg kg⁻¹ para daidzeína.

Los factores analizados respecto al *ambiente*, *año de cosecha* y *genotipo por ambiente* tuvieron efectos importantes en el contenido de componentes nutricionales y/o funcionales del haba. En el *factor ambiente* se detectó un efecto del genotipo y no ambiental. En el *factor año de cosecha* se demostró que los contenidos de los componentes evaluados no varían después de seis años de almacenar el haba. En el *factor genotipo por ambiente* se obtuvo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$).

Los análisis de componentes principales y dendograma mostraron agrupaciones de colectas de haba con base en los componentes nutricionales y funcionales evaluados, por lo que dichas colectas ya caracterizadas, pueden sugerirse para diferentes usos; industrial, como proveedoras de compuestos funcionales, consumo humano y animal.

En el estudio de percepción de los productores de Ciudad Serdán sobre el uso y consumo de haba, se encontró que aunque conocen diferentes variedades de haba (blanca, morada, criolla amarilla, tarragona, parraleña y cochinerá), siembran principalmente el haba conocida como criolla amarilla, por ser la variedad que tradicionalmente cultivan y comercializan.

Los entrevistados detectan ciertos efectos producidos por la ingesta de haba, como la flatulencia y malestar estomacal provocados posiblemente por los azúcares que contiene. También perciben que el haba les aporta un beneficio nutricional y que les suministra energía al cuerpo; pero ignoran los beneficios que les provee a la salud.

Los productores requieren de mayor información sobre las propiedades nutricionales y nutraceuticas que *Vicia faba* L. les puede aportar, como una estrategia para fomentar su consumo, lo que eventualmente favorecerá la nutrición y salud de las familias campesinas de la comunidad de estudio y de otras regiones donde se promueva el consumo de esta leguminosa.

De los resultados de este trabajo se visualiza que en México, *Vicia faba* L. es un recurso fitogenético poco valorado y escasamente analizado en su composición química. Por lo que los resultados de este trabajo aportan información y conocimiento importante sobre características nutricionales y funcionales de colectas de haba de México, que pueden servir como base para considerarlas como alimento funcional o como ingrediente para suplementar otros productos alimenticios.

ANEXOS

Cuadro 2.1A Preparación de las concentraciones del estándar para la curva de calibración.

Stock (μL)	Volumen del ácido sulfosalicílico 3 % (μL)	Concentración del estándar (μg mL ⁻¹)	Absorbancia
0	1000	0	0
5	995	25	0.216
10	990	50	0.486
15	985	75	0.917
20	980	100	1.258
25	975	125	1.404

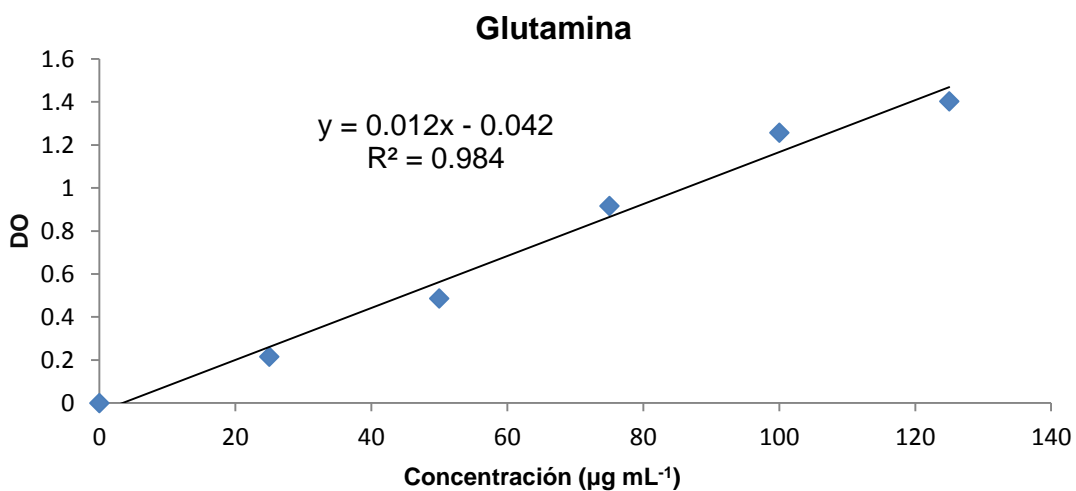


Figura 2.1A Curva de calibración del aminoácido tomado como referencia para el análisis. DO; densidad óptica.



Figura 2.2A Diagrama de proceso para la obtención de FDT

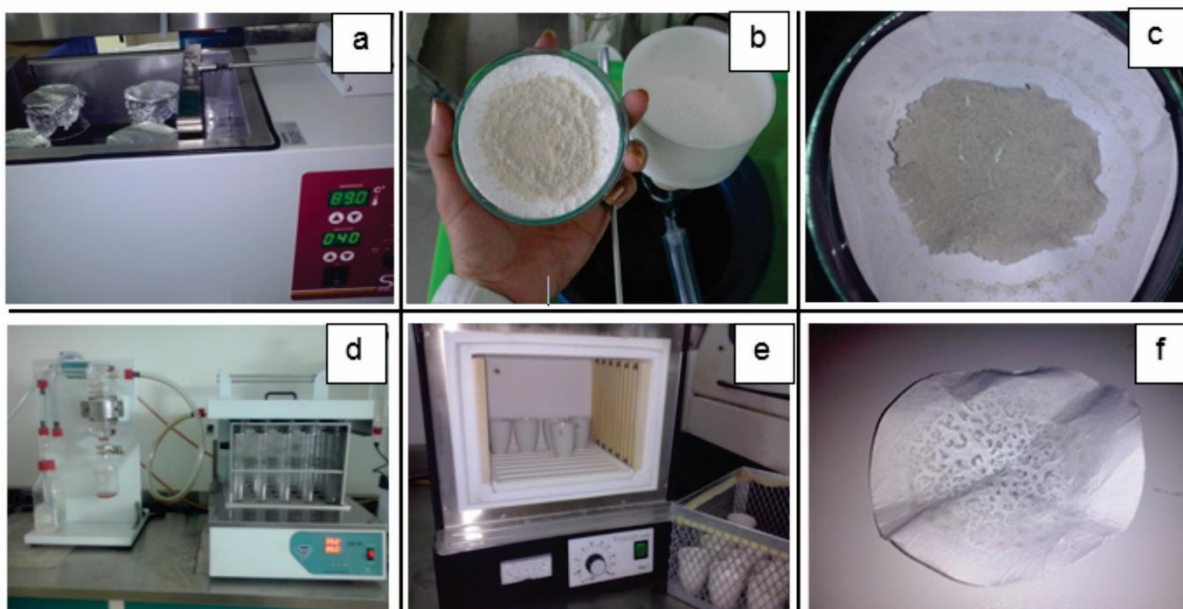


Figura 2.3A Procedimiento de FDT: a) Incubación de enzimas, b) filtrado de la muestra, c) filtro después de secado en la estufa, d) digestión para determinación de N_2 , e) incinerado de las muestras y f) filtro incinerado.

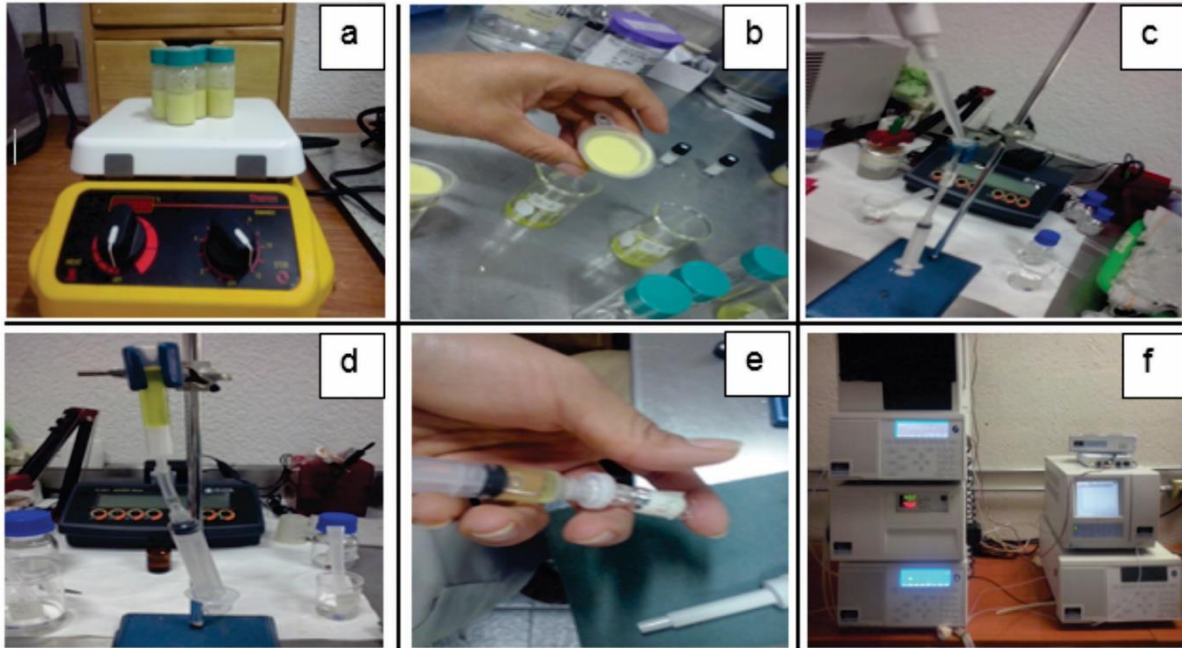


Figura 2.4A Procedimiento de la extracción de OLIG: a) agitado de la muestra, b) filtrado de la muestra, c) acondicionamiento del SPE, d) limpieza de la muestra, e) filtrado de la muestra con acrodisco y f) equipo HPLC.

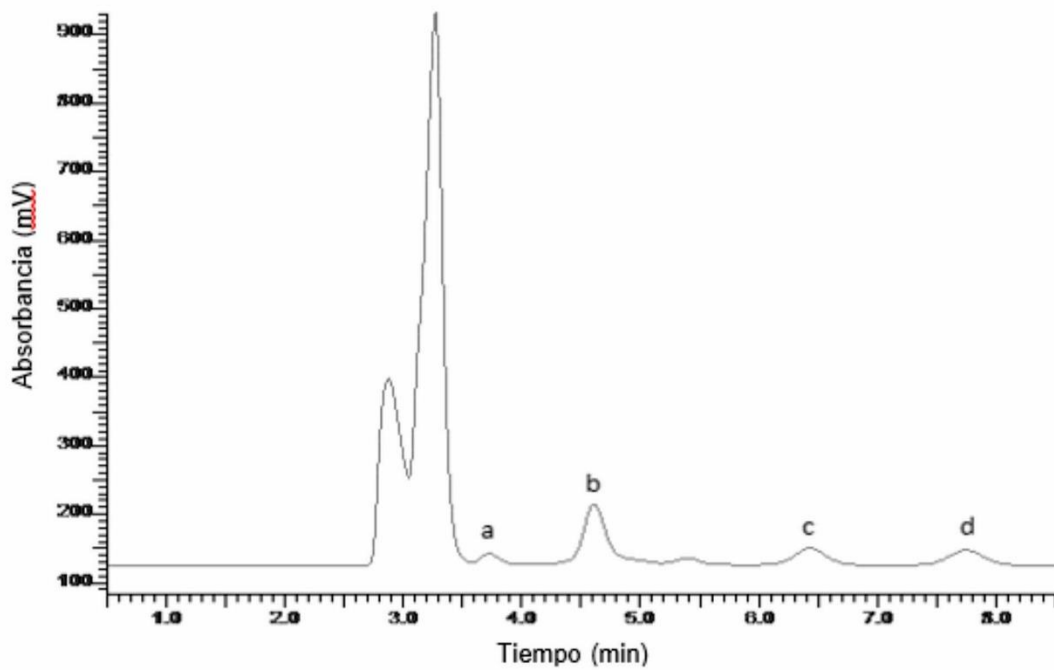


Figura 2.5A Cromatograma de la colecta C-181 que muestra los azúcares analizados: a) sacarosa, b) rafinosa, c) estaquirosa y b) verbascosa.

Cuadro 2.2A Volúmenes requeridos para curvas de calibración de los estándares.

Vial	Mezcla SER (µl)	V (µl)	H ₂ O HPLC (µl)	Volumen total (mL)	Concentración (mg mL ⁻¹)
1	100	-	900	1	0.5
2	200	200	600	1	1.0
3	300	-	700	1	1.5
4	400	400	200	1	2.0
5	500	-	500	1	2.5
6	600	-	400	1	3.0
7	700	-	300	1	3.5
8	800	-	200	1	4.0
9	900	-	100	1	4.5
10	-	1000	-	1	5.0

SER= Sacarosa, Estaquiosa y Rafinosa
V= Verbascosa

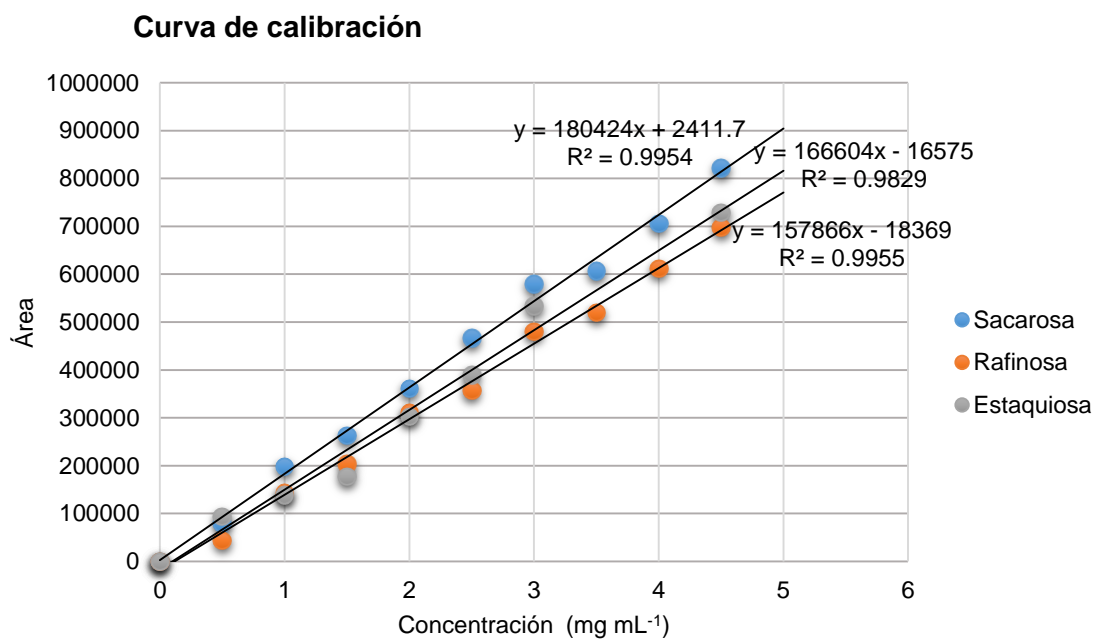


Figura 2.6A Curva de calibración de los estándares sacarosa, rafinosa y estaquiosa.

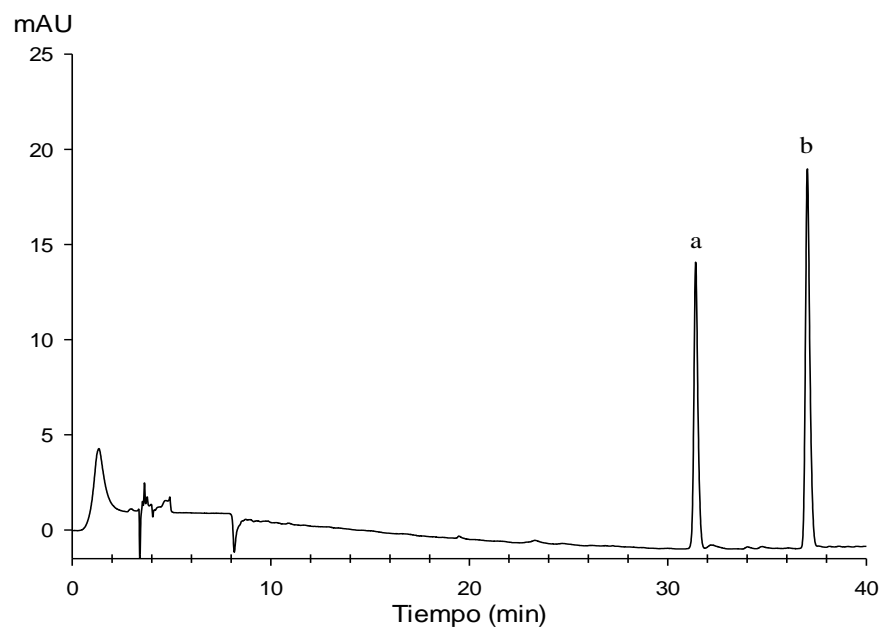


Figura 2.7A Cromatograma de los estándares de Isoflavonas; a: daidzeína y b: genisteína.

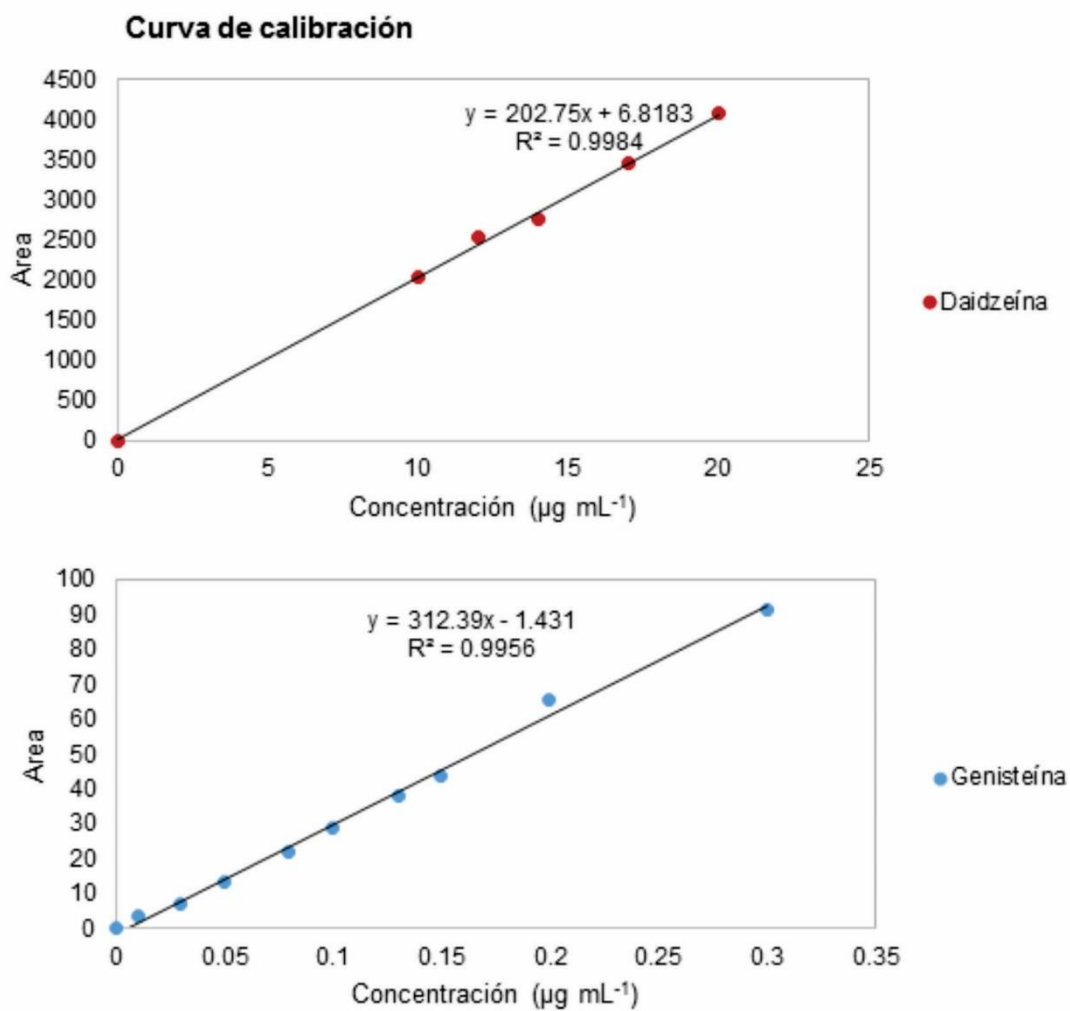


Figura 2.8A Curvas de calibración de las isoflavonas (genisteína y daidzeína) presentes en el tallo de haba.

Cuadro 2.3A Comparación de medias respecto a Tukey de los compuestos nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. entre la combinación Ambiente Genotipo, en el análisis *Factor Ambiente*.

	% PT	AAST (mg 100g ⁻¹)	% FDT	% SAC	% RAF	% EST	% VER
Genotipo	ZOA						
C-89	28.63 ^b	660.84 ^a	31.37 ^a	3.49 ^a	0.38 ^a	1.45 ^a	1.42 ^a
C-181	31.30 ^a	463.73 ^b	30.60 ^a	3.98 ^a	0.38 ^a	1.28 ^a	1.22 ^a
	TLA						
C-89	29.13 ^a	789.80 ^a	35.10 ^a	3.34 ^a	0.40 ^a	1.37 ^b	1.35 ^b
C-181	30.14 ^a	794.76 ^a	31.25 ^b	3.20 ^a	0.38 ^a	1.68 ^a	1.69 ^a

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; VER: Verbascosa; ZOA: Zoapan; TLA: Tlachichuca. Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Cuadro 2.4A Comparación de medias respecto a Tukey de los compuestos nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. entre la combinación Genotipo Ambiente, en el análisis *Factor Ambiente*.

VARIABLE	C-89		C-181	
	ZOA	TLA	ZOA	TLA
% PT	28.63 ^a	29.13 ^a	31.30 ^a	30.14 ^a
AAST (mg 100g ⁻¹)	660.84 ^b	789.80 ^a	463.73 ^b	794.76 ^a
% FDT	31.37 ^b	35.10 ^a	30.60 ^a	31.25 ^a
% SAC	3.49 ^a	3.34 ^a	3.98 ^a	3.20 ^b
% RAF	0.38 ^a	0.40 ^a	0.38 ^a	0.38 ^a
% EST	1.45 ^a	1.37 ^b	1.28 ^b	1.68 ^a
% VER	1.42 ^a	1.35 ^a	1.22 ^b	1.69 ^a

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; VER: Verbascosa; ZOA: Zoapan; TLA: Tlachichuca. Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Cuadro 2.5A Comparación de medias respecto a Tukey de los compuestos nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. entre la combinación Ambiente Genotipo, en el análisis *Factor Genotipo*.

GENOTIPO	% PT	AAST (mg 100g ⁻¹)	% FDT	% SAC	% RAF	% EST	% VER
SC							
C-281	26.58 ^a	723.26 ^a	29.69 ^{bc}	1.05 ^c	0.27 ^b	0.93 ^c	0.92 ^a
C-160	23.24 ^{ab}	465.83 ^{cde}	27.00 ^d	4.34 ^a	0.36 ^a	1.11 ^b	0.68 ^b
C-93	22.89 ^{ab}	525.45 ^{cd}	31.53 ^{ab}	0.48 ^e	0.17 ^c	0.67 ^{de}	0.61 ^b
C-288	23.78 ^{ab}	673.83 ^{ab}	29.88 ^{bc}	0.81 ^d	0.18 ^c	0.77 ^{cd}	0.57 ^{bc}
Zac22	24.56 ^{ab}	456.37 ^{de}	32.44 ^a	3.04 ^b	0.34 ^a	1.36 ^a	1.00 ^a
C-146	24.40 ^{ab}	572.28 ^{bc}	28.92 ^{cd}	0.87 ^{cd}	0.21 ^c	0.64 ^e	0.44 ^c
C-181	21.06 ^b	384.49 ^e	27.72 ^{cd}	0.83 ^d	0.23 ^{bc}	0.75 ^{de}	0.72 ^b
TLA							
C-281	30.40 ^a	963.33 ^a	30.69 ^b	3.15 ^d	0.44 ^a	1.49 ^{bc}	1.50 ^{ab}
C-160	27.63 ^a	618.34 ^c	31.46 ^{ab}	3.31 ^{bcd}	0.37 ^{ab}	1.69 ^a	1.56 ^a
C-93	26.90 ^a	525.45 ^c	28.97 ^b	3.53 ^{ab}	0.36 ^b	1.46 ^c	1.31 ^b
C-288	28.49 ^a	994.81 ^a	35.49 ^a	3.05 ^d	0.38 ^{ab}	1.61 ^{ab}	1.46 ^{ab}
Zac22	25.65 ^a	629.76 ^c	31.19 ^b	3.46 ^{abc}	0.34 ^b	1.48 ^{bc}	0.97 ^c
C-146	26.03 ^a	392.88 ^d	31.34 ^b	3.68 ^a	0.36 ^b	1.46 ^c	1.00 ^c
C-181	30.14 ^a	794.76 ^b	31.34 ^b	3.20 ^{cd}	0.38 ^{ab}	1.68 ^a	1.69 ^a

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; VER: Verbascosa; SC: San Cayetano; TLA: Tlachichuca. Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Cuadro 2.6A Comparación de medias respecto a Tukey de los compuestos nutricionales y/o funcionales de *Vicia faba* L. entre la combinación Genotipo Ambiente, en el análisis *Factor Genotipo*.

VARIABLE	C-281		C-160		C-93		C-288		C-Zac22		C-146		C-181	
	SC	TLA	SC	TLA	SC	TLA	SC	TLA	SC	TLA	SC	TLA	SC	TLA
% PT	26.58 ^b	30.40 ^a	23.24 ^b	27.63 ^a	22.89 ^b	26.90 ^a	23.78 ^a	28.49 ^a	24.56 ^a	25.65 ^a	24.40 ^a	26.03 ^a	21.06 ^b	30.14 ^a
AAST(mg 100g ⁻¹)	723.26 ^b	963.33 ^a	465.83 ^b	618.34 ^a	525.45 ^a	525.45 ^a	673.83 ^b	994.81 ^a	456.37 ^b	629.76 ^a	572.28 ^a	392.88 ^b	384.49 ^b	794.76 ^a
% FDT	29.69 ^b	30.69 ^a	27.00 ^b	31.46 ^a	31.53 ^a	28.97 ^b	29.88 ^b	35.49 ^a	32.44 ^a	31.19 ^a	28.92 ^a	31.34 ^a	27.72 ^a	31.34 ^a
% SAC	1.05 ^b	3.15 ^a	4.34 ^a	3.31 ^b	0.48 ^b	3.53 ^a	0.81 ^b	3.05 ^a	3.04 ^b	3.46 ^a	0.87 ^b	3.68 ^a	0.83 ^b	3.20 ^a
% RAF	0.27 ^b	0.44 ^a	0.36 ^a	0.37 ^a	0.17 ^b	0.36 ^a	0.18 ^b	0.38 ^a	0.34 ^a	0.34 ^a	0.21 ^b	0.36 ^a	0.23 ^b	0.38 ^a
% EST	0.93 ^b	1.49 ^a	1.11 ^b	1.69 ^a	0.67 ^b	1.46 ^a	0.81 ^b	1.61 ^a	1.36 ^b	1.48 ^a	0.64 ^b	1.46 ^a	0.75 ^b	1.68 ^a
% VER	0.92 ^b	1.50 ^a	0.68 ^b	1.56 ^a	0.61 ^b	1.31 ^a	0.57 ^b	1.46 ^a	1.00 ^a	0.97 ^a	0.44 ^b	1.00 ^a	0.72 ^b	1.69 ^a

PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; VER: Verbascosa; SC: San Cayetano; TLA: Tlachichuca. Medias con la misma letra por columna no son significativamente diferentes.

Cuadro 2.7A Eigenvalores, eigenvectores y proporción acumulada de la variación explicada por cada variable nutricional y/o funcional de colectas de *Vicia faba* L., en los primeros tres componentes principales en los *factores ambiente, año de cosecha y genotipo por ambiente*.

Factor Variable	Ambiente			Año de cosecha		Genotipo/ambiente		
	CP 1	CP 2	CP 3	CP 1	CP 2	CP 1	CP 2	CP 3
SAC	-0.5004	0.0579	-0.0357	0.4111	-0.0118	0.3418	-0.5385	0.0986
RAF	0.1999	0.5635	0.3162	0.4107	-0.0427	0.4211	-0.2958	-0.1164
EST	0.3614	-0.4385	0.1163	0.4047	0.1692	0.4383	-0.1898	0.1961
VER	0.3850	-0.4029	0.1451	0.4111	0.0070	0.4320	0.0393	-0.0863
PT	-0.3345	-0.1979	0.8979	0.4102	-0.0654	0.4173	0.2130	-0.3257
AAST	0.4986	0.0456	0.1390	0.1238	0.9160	0.2852	0.5824	-0.4041
FDT	0.2650	0.5322	0.1967	0.3820	-0.3550	0.2678	0.4476	0.8133
Eigenvalores	3.95	2.47	0.57	5.91	4.83	4.71	1.33	0.58
Proporción	0.56	0.35	0.08	0.84	0.15	0.67	0.19	0.08
Acumulada	0.56	0.91	1	0.84	1	0.67	0.86	0.94

CP: Componente principal; PT: Proteína total; AAST: Aminoácidos solubles totales; FDT: Fibra dietética total; SAC: Sacarosa; RAF: Rafinosa; VER: Verbascosa. Los valores en negritas representan las variables con mayor impacto en la variación de cada Componente Principal.

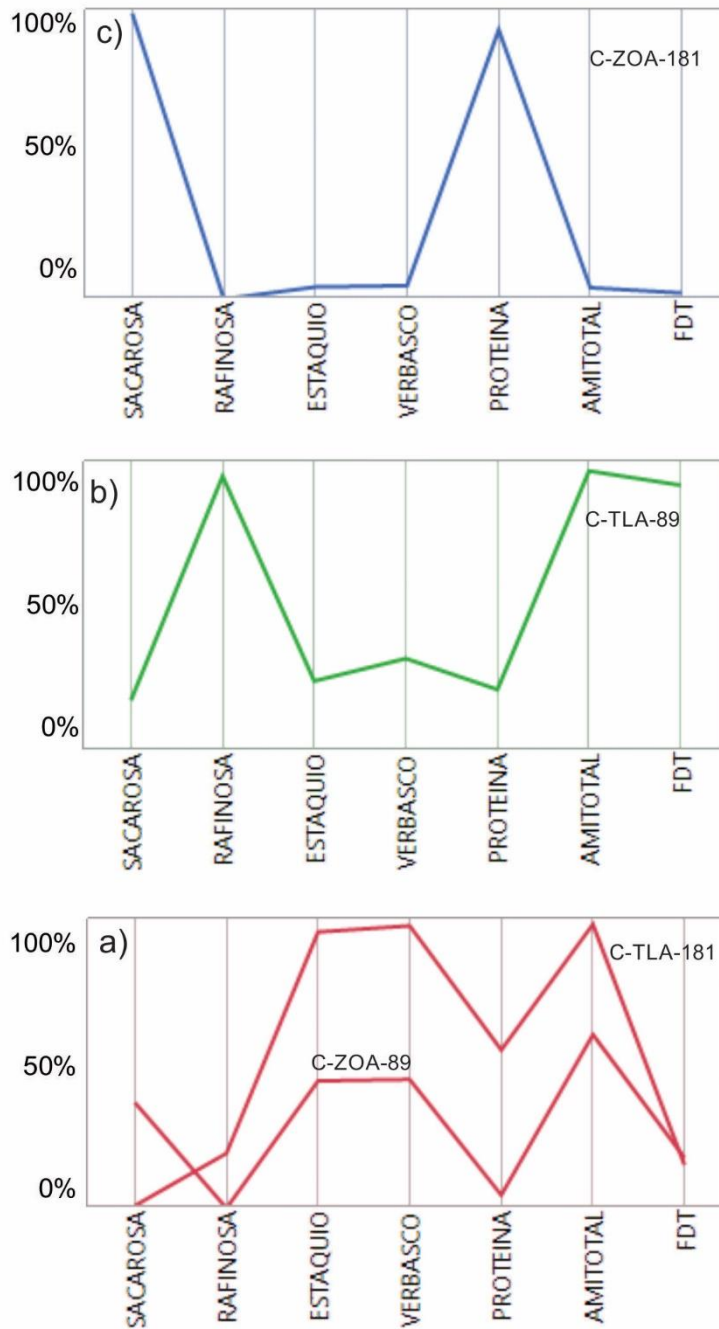


Figura 2.9A Perfiles obtenidos de los resultados de las variables nutricionales y/o funcionales en el *Factor Ambiente*: a) primera agrupación (G I), b) segunda agrupación (G II) y c) Tercera agrupación (G III).



Figura 2.10A Perfil de las variables en el análisis de *Factor Año de Colecta* (2006, 2011 y 2012), a) primera agrupación (G I) y b) segunda agrupación (G II).

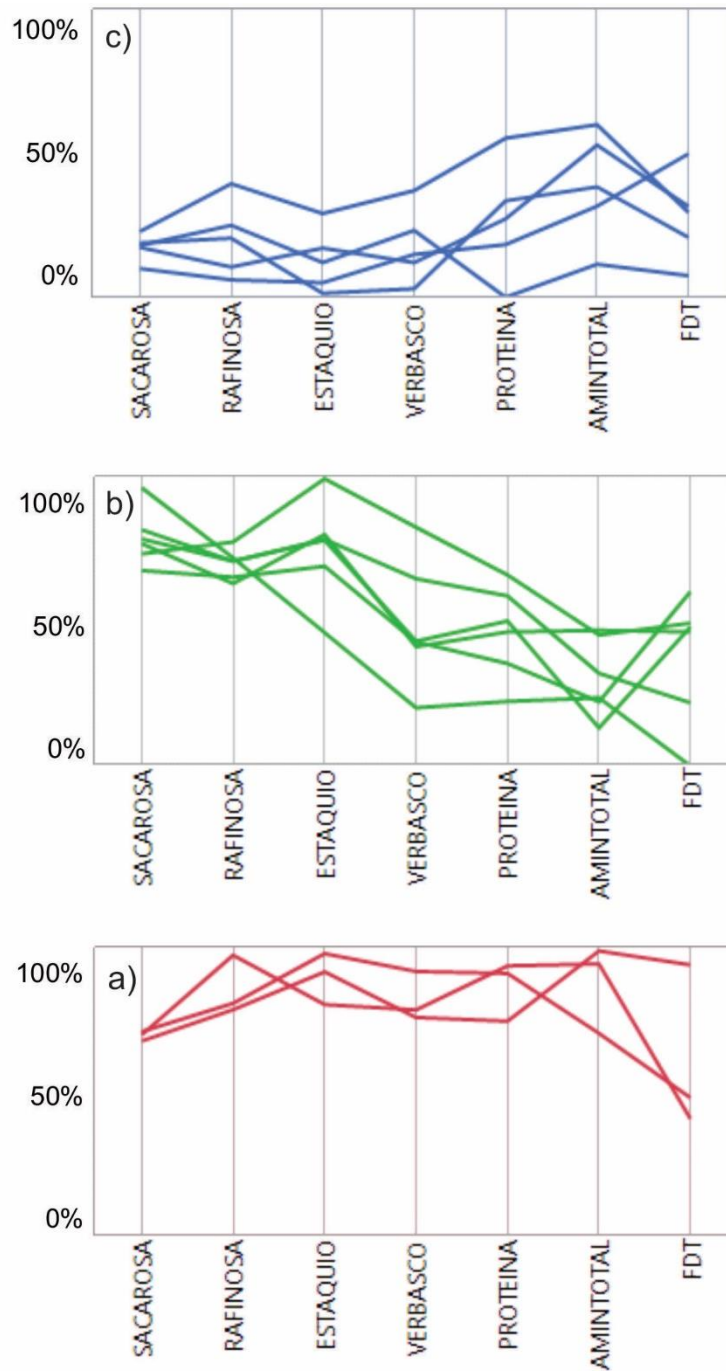


Figura 2.11A Perfil de las variables en el análisis Interacción GxA del *Factor Genotipo*, a) primera agrupación (G I), b) segunda agrupación (G II) y c) tercera agrupación (G III).



ANEXO III

COLEGIO DE POSTGRADUADOS, *CAMPUS* PUEBLA
ENTREVISTA: PERCEPCIÓN DEL CONSUMO DE HABA
EN MUNICIPIO DE CIUDAD SERDAN, PUEBLA

La presente entrevista tiene como objetivo identificar la percepción del uso desde el punto de vista nutricional y funcional de las variedades de haba que cultivan los productores de la región de Serdán Puebla. La información recabada en esta entrevista será estrictamente usada para fines de investigación sin afectar su reputación con su comunidad u con otra persona.

DATOS PERSONALES

Nombre: _____ Edad _____

Estado civil: _____ Localidad: _____

Fecha de entrevista: _____ Hora de inicio: _____ Termina: _____

Sexo: Masculino Femenino

Principal ocupación _____

*Escolaridad: Preescolar Primaria Secundaria Bachillerato Licenciatura

Otros: _____

*Años cursados _____

¿Cuántos integrantes son en su familia? Mujeres _____ Hombres _____

CONOCIMIENTO GENERAL DEL CULTIVO DE HABA

1.- ¿Usted o su esposo cultiva haba? Sí No

2.- ¿Cuántos años lleva cultivando el haba?

3.- Cuáles son las principales características que tiene su mejor haba respecto...

Al tamaño de grano	a) pequeño	b) mediano	c) grande
Tiempo de cocción	a) lento (2 a 3 hr)	b) ni lento ni rápido (1½ a 3 hr)	c) rápido (1½ a 2½ hr)
Sabor	a) bueno	b) regular	c) malo
Dureza del grano	a) suave	b) duro	c) muy duro
Rendimiento	a) bueno	b) regular	c) malo

Color de la testa (Cáscara)

Color del grano (Cotiledón)

4.- ¿Cuántas variedades de haba conoce?

- Blanca Morada Criolla Amarilla Tarragona Parraleña
 Mestiza Cochinera

Otra _____

5.- ¿Cuántas variedades de haba siembra usted o su esposo? No. _____ ¿Cuáles son?

- Blanca Morada Criolla Amarilla Tarragona Parraleña
 Mestiza Cochinera Otra

6.- ¿Cuánta superficie (hectáreas) cultiva por variedad de haba?

Superficie de hectáreas	Variedad de haba	¿Por qué esa cantidad?

¿En qué fechas siembra el haba?

Oiga, y todas las variedades de haba que me dijo las siembra en la misma fecha...

Fecha de siembra	Variedad de haba

7.- ¿Cuál de esas fechas le afecta más en ...?

En...	Fecha que le afecte más en sus habas
Tamaño de grano	
Tiempo de cocción	
Sabor	
Dureza de grano	
Rendimiento de grano o vaina verde	

Otra	
------	--

9.- ¿Siembra en riego, humedad residual o en temporal su cultivo de haba?

10.- ¿Bajo cual condición de siembra le afecta más la calidad de su cultivo de haba?

Con respecto a...	Condición de siembra
Tamaño del grano	
Sabor	
Tiempo de cocción	
Dureza del grano	
Rendimiento de grano o vaina verde	
Otra	

11.- Usted o su esposo ¿Qué variedad de haba prefieren más para sembrar?

Con respecto a...	Variedad de haba	¿Por qué?
Tamaño del grano		
Rendimiento de grano		
Color de testa		
Color del grano sin cáscara		
Dureza del grano		
Tiempo de cocción		
Sabor		
Otra		

12.- ¿Las habas que cultiva las clasifica para algún tipo de uso? a) Sí b) No

¿Cuál utiliza para?

- Alimento para animales _____
- Alimento humano _____
- Venta _____
- Medicinal _____
- Transformación para la venta _____
- Artesanía _____

Otro _____

13.- Y, ¿Cuándo cosecha el haba?

¿Es la misma fecha para cada una de las variedades que cultiva?

Fecha de Cosecha	Variedad de haba

14.- ¿Cuántos kilos cosecha de haba por cada variedad?

Rendimiento/ha (kilos o Ton)	Variedad de haba

15.- ¿En qué época vende el haba? _____

¿Por qué? _____

16.- ¿La vende seca, verde o ambas?

Seca Verde Ambas

17.- ¿Cómo vende el haba?

Pelada Con cascara Ambas

18.- ¿Si el haba se descascará, tiene un mayor precio en el mercado? a) Si b) No

¿Por qué?

19.- ¿Qué hacen con la cascara de haba o para que la utiliza?

20.- ¿Con base en los tipos de haba hay diferencia de precio respecto a...?

Color de cascara Sí No

Color del grano, sin cáscara Sí No

Sabor Sí No

Tamaño grano Sí No

Tiempo de cocción Sí No

Otro _____

21.- ¿Qué tipo de haba es la más cara y la más barata?

Costo	Tipo de haba
La más barata	
La más cara	

CONSUMO DE HABA

22.- ¿Le gusta el haba? Sí No ¿Por qué? _____

23.- ¿Con que frecuencia consume el haba?

Diario

Más de tres días por semana

Tres días por semana

Dos veces por semana

Una vez por semana

Temporalmente de 3-5 veces al mes

Una vez al mes

Esporádicamente

Solo por temporada ¿Cuál temporada? _____ y, ¿con qué frecuencia? _____

Otro _____

24.- ¿En su casa, quien consume haba?

Niños (as) Adultos (as) Ancianos (as) Todos los anteriores

En caso de que fuera solo una edad específica, preguntar ¿Por qué? _____

25.- ¿Cómo prefiere consumir el haba? En estado fresca En estado seco

Transformada (Procesada) Otra _____

26.- ¿Por qué le gusta consumirla así?

Por... Sabor Gusto Tradición Textura (suave, dura) Por tiempo de cocción
 Les llena más Son nutritivas Barata Otra _____

Si la consume en fresco...

27.- ¿Cómo la consume? ¿Qué guisos realiza? (Poner nombre regional)

Si la consume en seco...

28.- ¿Cómo la consume? ¿Qué guisos realiza? (Poner nombre regional)

Procesada como la consume...

29.- ¿Cómo la consume o la ha consumido?

30. ¿La ha llegado a consumir cruda sin un previo cocinado?

Si	No	En qué estado (fresco, seco o ambos)	¿Por qué?

31.- Cuando cocinan haba para toda la familia, ¿cuánto prepara?

- Un litro
 Un plato
 Una tasa
 1 kilo
 ½ kilo

Otro _____

32.- ¿Qué cantidad de haba consume una persona adulta (A), un niño (N)?

	1 plato	2 platos	1/2 plato	1 taza	1/2 taza	Otro
Cocida en caldo						
Hervida						
Frita						
Tostada (al comal)						
En harina (atole)						
Cruda						
Preparada con otros alimentos						
Otros						

33.- ¿Cómo consume el haba con cáscara o sin cascara? Cuando la consume...

	Con cáscara	Sin cascara	¿Por qué?
Cocida en caldo			
frita			
Hervida			
Tostada			
En harina (atole)			
Cruda			
En hacer harina para tortitas o atole			
Combinada con otros alimentos			
Otra			

34.- ¿Me podría comentar cuál es la diferencia entre sus variedades de habas que cultiva respecto a ...

a) Sabor: ¿Qué sabores identifica en las habas?

Sabor	√	¿Podría mencionarme que variedad de haba es la que le sabe así?
Dulces		
Saladas		
Amargas		
Otras		

b) Espesor: ¿Cuántos y cuáles tipos de espesores distingue en la preparación de alimentos?

Espesor	√	¿Podría mencionarme que variedad de haba es la que le espesa así o como las distingue?
Ligero		
Espeso		
Muy espeso		
Otras		

c) Tiempo de cocimiento: ¿Cuáles variedades de haba tardan más en cocerse? ¿Por qué?

Variedad de haba	Sabe usted el ¿por qué tarda ese tiempo?

d) Tiempo de cocimiento: ¿y cuáles menos? ¿Por qué?

Variedad de haba	Sabe usted el ¿por qué tarda ese tiempo?

e) Gusto: ¿Cuáles le gustan más? ¿Por qué?

Variedad de haba	¿Por qué?

f) ¿Cuál le gusta menos? ¿Por qué?

Variedad de haba	¿Por qué?

g) Dureza: ¿Distingue diferencias de consistencia en el grano sin cáscara en sus variedades de haba?

Dureza	√	¿Podría mencionarme que variedad de haba tiene esas características?
Duras		
Suaves		
Otras		

h) Textura ¿Cuándo obtiene harina de haba distingue diferencia en la textura?

Textura	√	¿Podría mencionarme que variedad de haba es la que, al hacerla harina tiene esa textura?
Fina		
Gruesa		
Otras		

35.- ¿Cuáles son los principales platillos que prepara con cada tipo de haba?

Platillo	Que variedad de Haba

36.- ¿Cuándo consume haba, cuál le llena más o con cuál se siente más satisfecho?

Hervida (fresca) _____

Tostada (al comal, fresca o seca) _____

Azada (fresca) _____

Secas (para alimentos) _____

Cruda _____

Otras _____ ¿Cuáles? _____

37.- ¿Si consume haba, cree que le aporte un beneficio nutrimental a su cuerpo? Sí No

38.- ¿Si consume haba, cree que le aporte energía a su cuerpo para realizar sus actividades diarias?

Sí No a veces ¿Por qué?

39.- ¿Cuándo consume haba se siente aventado, o tiene gases o malestar en el estómago?

Sí No a veces ¿Por qué?

40.- ¿Cómo le causa más esos síntomas, cuando la comen en...?

Fresco Seco Procesada

Otra _____

41.- ¿Identifica entre sus diversas habas cuál le causa más o menos esos síntomas?

42.- Y cuando comen en exceso haba ¿Qué ha sucedido o que síntomas siente?

43.- ¿Con que otros alimentos consume el haba?

Con cereales ¿cuáles? _____

Con nopales

Carne de puerco

Carne de res

Carne de pollo

Verduras

¿cuáles? _____

Otros _____

ALMACENAMIENTO DE HABA

44.- ¿Almacena el haba que cultiva? Sí No

45.- ¿Cómo y dónde almacena su haba?

46.- ¿Cuánto tiempo almacena el grano de haba?

½ año

1 año

2 años

3-5 años

Más de 5 años

Otro _____

47.- ¿Cuándo consume haba almacenada o recién cosechada, nota algunas diferencias en...?, ¿Es en todas sus habas o sólo en algunas? Si es en algunas me podría mencionar en cual variedad.

	Si	No	En todas	Algunas	Cuál es la variedad
Sabor					
Dureza de grano					
Textura de harina					
Color del grano (testa)					
Tiempo de cocción					
Espesor de caldo					
Coloración del caldo					
Otro					

ENFERMEDADES

48.- ¿Sabe usted, o ha escuchado si el haba sirve para tratar alguna enfermedad? Sí No

49.- ¿Conoce cuál enfermedad?

50.- ¿Qué partes de la planta del haba se utiliza para tratar alguna enfermedad?

Flores Vainas Tallo Grano Raíz Hojas Otro _____

51.- ¿Cuál enfermedad? _____

52.- ¿Sabe si alguna persona la utiliza para curar alguna enfermedad? Sí No ¿Cuál?

53.- ¿En su familia hay alguien que tenga alguna enfermedad o síntomas cómo?

Cáncer Osteoporosis Diabetes Estreñimiento Estomago Parkinson

Otras _____

54.- ¿Usted o alguien de su familia padece de estreñimiento?

Sí No ¿Cuántos? _____ y, ¿Por qué cree que le ocurra? _____

55.- ¿Alguien de su familia padece de temblorina en sus manos?

Sí No ¿Cuántos? _____

56.- ¿Sabe si el exceso del consumo de haba provoca alguna enfermedad? Sí No ¿Cuál?

57.- ¿Cree, que el que usted consuma haba influya en su salud, en evitar tener alguna enfermedad o síntoma?

Sí No ¿Por qué? y ¿cuál sería esa enfermedad o síntoma? _____

Anexo 3.2A Imágenes de productores entrevistados en Ciudad Serdán Puebla

