

24 79



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

**EFFECTO DEL ENDURECIMIENTO ACELERADO
SOBRE EL CONTENIDO DE LOS IONES
Ca, Mg Y ACIDO FITICO EN FRIJOL**

T E S I S

Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P r e s e n t a:
SILVIA MUCIÑO RAYMUNDO

México D. F.



1989

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

		Página
I	Introducción	1
II	Objetivos	4
III	Generalidades	
3.1	Clasificación Botánica	5
3.2	Cultivo y Producción	6
3.3	Manejo Postcosecha	7
3.4	Composición Química y Nutricional	9
3.5	Proceso de Endurecimiento	10
3.6	Acido Fítico	18
3.7	Absorción Atómica	22
IV	Materiales y Métodos	
4.1	Caracterización Tecnológica	
4.1.1	Caracterización Física	24
4.2	Caracterización Química	
4.2.1	Análisis Proximal	25
4.2.2	Contenido de Acido Fítico	26
4.2.3	Contenido de los iones Ca y Mg	28
4.3	Caracterización Nutricional	
4.3.1	Digestibilidad "in vitro"	28
4.3.2	Relación de Eficiencia Proteica (PER)	29
4.3.3	Digestibilidad Aparente (DA)	32
V	Resultados y Discusión	33
VI	Conclusiones y Recomendaciones	62
VII	Bibliografía	64
VII	Apéndice	72

I. INTRODUCCION

El frijol es uno de los cultivos leguminosos más importantes del mundo, particularmente en los países en vías de desarrollo destaca como un producto de singular importancia, debido a que para la mayoría de sus habitantes representa la principal, si no es que la única, fuente de proteína que consumen.

En México el frijol no es la excepción y junto con el maíz, conforman la base de la alimentación para la población urbana y rural de bajos ingresos económicos.

En nuestro país, la cantidad y calidad del frijol disminuye conforme avanza la cadena postcosecha, éste sucede básicamente por deficiencias en la infraestructura y en los servicios inherentes al sistema postcosecha. La etapa más crítica de la cadena es la del almacenamiento, debido a que es donde se presenta el mayor número de factores que inciden en la calidad y cantidad del grano.

Las condiciones climatológicas del país, es uno de los factores que más influyen sobre el deterioro del grano durante la etapa de almacenamiento, por ser la humedad y temperatura altas las características del clima y por lo tanto de las condiciones de almacenamiento en la mayor parte del territorio nacional donde es almacenado el frijol.

El endurecimiento del frijol, es uno de los graves problemas que se presentan como consecuencia de estas condiciones adversas de almacenamiento.

El frijol se consume generalmente después de un proceso de cocción que origina el ablandamiento del grano y la generación del sabor característico del producto. El frijol endurecido es aquel grano que presenta un tiempo de cocción mayor de 4.5 horas en condiciones caseras (1 atm de presión y temperatura de ebullición) (Ramírez, 1986).

La dificultad del grano endurecido para suavizarse durante el proceso de cocción, así como su deterioro principalmente en el sabor y olor que en muchas ocasiones sufre el producto, son las características principales por las cuales el frijol endurecido es rechazado tanto por el consumidor directo (ama de casa) como por el industrial, siendo la primera de estas características la de mayor peso en la decisión del consumidor, debido a que se traduce finalmente en un incremento económico. Además de que para el industrial el mantener uniformidad en las características de la materia prima, es requisito indispensable de los procesos unitarios que utiliza para el procesamiento del frijol, para así obtener productos con un mismo grado de calidad.

Los problemas mencionados anteriormente unidos al deterioro nutricional que presenta el frijol endurecido, han sido argumentos más que suficientes para iniciar y continuar investigaciones profundas, con miras a resolver este grave problema que enfrenta México y otros países en vías de desarrollo.

Existen gran variedad de trabajos relacionados al tema que abarcan diferentes aspectos del mismo y entre los cuales se pueden mencionar; efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo del endurecimiento (Muneta, 1964; Burr, 1968; Molina, 1975; González, 1982; Moscoso, 1982; Elías, 1982); aspectos bioquímicos (Elías, 1982; Moscoso, 1984; Siewwright, 1986; Gutiérrez, 1986); valor nutricional (Antunes, 1979; Bressani, 1982); efecto de las condiciones de almacenamiento sobre el tiempo de cocción (Quast y col, 1977; Varriano, 1979; Kon, 1979; Jackson, 1981; Silva, 1981; Elías, 1982; Jones y col., 1983; Varriano-Marston y col., 1981).

Los factores involucrados en el proceso de endurecimiento del frijol, las modificaciones bioquímicas y estructurales así como las implicaciones nutricionales del endurecimiento, todavía no

han sido lo suficientemente estudiadas debido a lo complejo de los mecanismos que tienen lugar en cada uno de ellos.

En el presente trabajo, se estudió el efecto del endurecimiento acelerado sobre el contenido del ácido fítico y de los iones Ca y Mg en frijoles con diferente grado de susceptibilidad al endurecimiento. Encontrándose que el contenido del ácido fítico disminuyó en las muestras endurecidas y que el de los iones Ca^{2+} (en cáscara) aumentó en relación directa al grado de endurecimiento.

Simultáneamente se determinó el valor nutricional de dichos frijoles sometidos a cocción, germinación y tratamiento térmico al calino. Estos dos últimos tratamientos se realizaron con la finali dad de ver si el valor nutricional del frijol se veía incrementado por ello, sin embargo, esto no sucedió así, ya que el valor nutri cional en ambos casos (germinación y tratamiento térmico alcalino) fue inferior al de cocción (de referencia).

Finalmente se estableció una correlación entre el % de Diges tibilidad aparente y el % de ácido fítico perdido, encontrándose que a medida que el primero disminuye el segundo aumenta.

II. OBJETIVOS

En vista de los serios problemas de comercialización que presenta el frijol endurecido y de la relación directa de tales acontecimientos con la importancia que tiene este grano básico dentro de la alimentación nacional, se planteó un proyecto de investigación multidisciplinaria con el fin de encontrar sus causas, naturaleza, prevención, efecto sobre el valor nutritivo y alternativas para la transformación del frijol endurecido. El presente trabajo forma parte de dicho proyecto.

El presente estudio tuvo por objeto observar de manera independiente la relación entre el contenido de ácido fítico y el de los iones Ca y Mg de los frijoles en estudio, respecto a su grado de dureza.

Paralelamente, se realizaron estudios nutricionales para establecer el efecto del endurecimiento acelerado sobre el valor nutritivo del frijol. Con el propósito de comprobar si la germinación y el tratamiento térmico alcalino tenían un efecto positivo sobre el valor nutritivo del frijol, ambos se pusieron en práctica, midiendo el valor nutritivo del frijol como Relación de Eficiencia Proteica (PER), % de Digestibilidad Aparente (D.A.) y % de Digestibilidad "in vitro" (muestras crudas y cocidas).

Finalmente se determinó la relación existente entre pérdida de ácido fítico y % de Digestibilidad Aparente. Así mismo, se estudió la interrelación entre el contenido de ácido fítico y el contenido de iones Ca y Mg de los frijoles estudiados con el tiempo de cocción.

III. GENERALIDADES

Los vegetales son considerados, sin lugar a dudas, como el recurso alimenticio más importante para la humanidad, debido a que representan el 81.8% del total de alimentos consumidos mundialmente, en tanto que los recursos animales y marinos sólo el 16.8% (FAO, 1977).

De los vegetales, sobresalen las leguminosas y sus productos como una fuente importante de proteína, ya que el 20% del total de proteína consumida en todo el mundo proviene de éstas (Charley, 1987). Dentro de las leguminosas el frijol es de las más importantes mundialmente, debido principalmente a su costo y accesibilidad.

El frijol común es originario de Centro y Sudamérica; como cultivo se conoce desde hace más de 4 000 años A.C. Después del descubrimiento de América, el frijol común pasó a Europa y África y posteriormente a Asia. Actualmente se cultiva en todos los países tropicales y subtropicales (Ustimenko-Bakumovski, 1982).

3.1 CLASIFICACION BOTANICA

El frijol es una planta fanerógama, ya que tiene sus órganos reproductores bien definidos y además visibles; angiosperma porque sus semillas están envueltas en el pericarpio; dicotiledónea, ya que posee dos cotiledones y dialipétala porque su corola está compuesta de pétalos separados.

Familia	Leguminosae
Sub-Familia	Papilionoideae
Tribu	Phaseolae
Sub-Tribu	Phaseolineae

Género Con el nombre de frijol, se cultivan varias especies en México, principalmente del género Phaseolus, aunque en algunos casos también se les cono

ce como frijoles a las semillas del género *Vigna*. Las principales especies del género *Phaseolus* que se cultivan en México son: *vulgaris* L., *coccineus* L. o *multiflorus* Willd y *lunatus* L., de las cuales la primera se encuentra más extendida, pues un 90% del total de las variedades de frijol que se siembran en el país pertenecen a esta especie (Cárdenas, 1984).

3.2 CULTIVO Y PRODUCCION

En todos los estados del país se siembra y cosecha frijol en mayor o menor cantidad, sin embargo, destacan como principales productores: Zacatecas, Durango, Chihuahua, Jalisco, Tamaulipas, Nayarit, Sinaloa, Veracruz, Guanajuato, Chiapas y Puebla. Las principales zonas productoras de frijol se localizan en el Norte, Noreste y Centro Occidente de la República Mexicana, quienes representan aproximadamente el 70% de la producción nacional.

En México se siembran alrededor de dos millones de hectáreas con frijol, la mayor parte de la superficie sembrada (del 80 al 90% del total) es de temporal y el resto de riego.

El frijol se siembra dos veces al año: ciclo primavera-verano y ciclo otoño-invierno. Durante el primero se siembra la mayor superficie (83.83% del total de Ha) y se obtiene también la mayor producción (68.26% del total nacional) aunque los rendimientos son bajos (387 Kg/Ha); en lo que respecta al segundo ciclo, se siembra el 16.17% del total de Ha, se produce el 31.74% del total nacional y los rendimientos son altos, 933 Kg/Ha aproximadamente.

El frijol se cosecha entre los 70 y 90 días después de la siembra (dependiendo de la variedad).

Existen pérdidas de lo sembrado a lo cosechado principalmente por: Sinistros de origen natural (sequías, inundaciones, heladas, etc.) y plagas (chahuixtle, mosaico amarillo y común, insectos chupadores, chicharrita, gusano ejetero, catarinita, etc.).

A continuación (Cuadro No. 1) se presenta la superficie cosechada, el rendimiento medio y la producción de frijol durante los últimos 10 años.

CUADRO No. 1 Superficie cosechada, rendimiento medio y producción de frijol.

AÑO	SUPERFICIE COSECHADA (Ha)	RENDIMIENTO MEDIO (Ton/Ha)	PRODUCCION (Ton)
1978	1 580 228	0.600	948 744
1979	1 446 168	0.517	825 293
1980	1 551 352	0.603	935 174
1981	1 990 669	0.669	1 331 305
1982	1 711 978	0.638	1 093 079
1983	1 996 408	0.642	1 281 706
1984	1 725 057	0.564	973 563
1985	1 782 341	0.512	911 908
1986	1 820 395	0.596	1 084 830
1987	1 787 000	0.572	1 023 000

Fuente: Dirección General de Economía Agrícola, SARH (1987)

3.3 MANEJO POSTCOSECHA

Una vez que el frijol es cosechado manual o mecánicamente, inicia la cadena postcosecha (Figura No. 1) ésto es, atraviesa por una serie de etapas hasta que llega a su destino final, el consumidor. Son estas etapas las responsables del grado final de deterioro cuanti y cualitativo que sufre el grano, siendo la de almacena-

miento, la de mayor importancia, debido a que es donde se presenta el mayor número de factores que contribuyen a este deterioro.

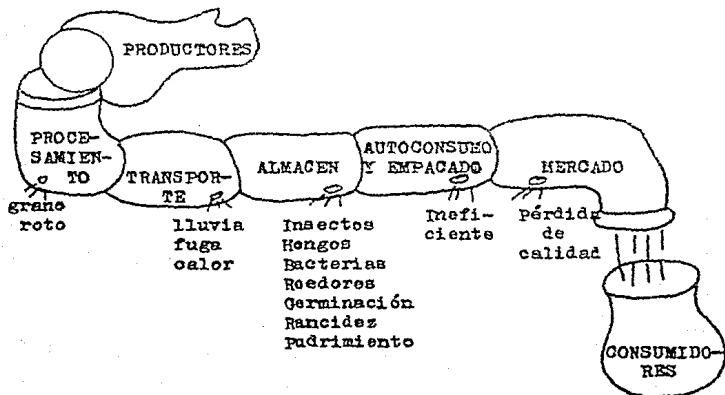


FIGURA No. 1 Maneje postcosecha del grano desde el productor al consumidor. (Tomado de Post-Harvest Biotechnology of Fruits, Vol. I, C.R.C. Press, 1984) (Gutiérrez, 1986).

El frijol almacenado inadecuadamente está sujeto a: Infestaciones por insectos, crecimientos microbianos, ataque por roedores así como procesos de endurecimiento, germinación, rancidez y pudrimiento (Jamieson y Jobber, 1975; Gutiérrez, 1986).

Las pérdidas postcosecha generalmente son el resultado de distintos factores: Conocimiento insuficiente de la naturaleza del grano en relación con las condiciones climáticas del país; locales inadecuados y prácticas deficientes de almacenamiento; falta de medidas para combatir plagas e insectos; medios deficientes de comu-

nicación, envasado inadecuado y lo más común, marcada escasez de personal debidamente capacitado.

El Programa Nacional de Alimentación (PRONAL) estima las pérdidas postcosecha de granos básicos en un 10% de la producción nacional. Específicamente el problema del endurecimiento provoca cuantiosas pérdidas en la producción anual de frijol, según reportes de Bodegas Rurales CONASUPO (BORUCONSA) y Almacenes Nacionales de Depósito (ANDSA), estos hechos ocasionan la indisponibilidad del grano básico y la pérdida de miles de millones de pesos para el país.

3.4 COMPOSICION QUIMICA Y NUTRICIONAL

La semilla madura y seca del frijol tiene un contenido de humedad del 9 al 12%, de cenizas del 3 al 4% y de proteínas del 18 al 37%, por lo que es considerada una buena fuente de proteína aunque no de buena calidad, debido principalmente a la deficiencia que presenta en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), sin embargo, posee un elevado contenido de lisina.

El frijol contiene dos tipos de proteína principalmente, globulinas y albúminas. Las primeras son el constituyente mayoritario ya que aproximadamente representan del 70 al 85% del contenido total de proteína (Charley, 1987; Chávez y López, 1979; Woot-Tsuen, 1979; Fisher y Bender, 1976).

El contenido de grasa del frijol es relativamente bajo, del 0.8 al 2.2% predominando los ácidos grasos insaturados (oleico, lineoleico y linoléico) (Takayama y col., 1965; Ramírez, 1986; Woot-Tsuen, 1979).

El contenido de carbohidratos en frijol varía del 47 al 71% de los cuales son indigeribles del 15 al 20%. De estos carbohidratos se presentan dos fracciones con respecto a su solubilidad acuosa, insolubles en agua (12-15%) compuestos principalmente de fibra

cruda (celulosa, hemicelulosa y lignina) y solubles en agua (5-8%) principalmente pectinas y oligosacáridos (Chávez y López, 1979; Ramírez, 1986).

En general el frijol es una buena fuente de calcio y de hierro así como también de las vitaminas B₁ (tiamina) y B₂ (riboflavina), en tanto que la niacina y la vitamina K se encuentran en bajas cantidades (Woot-Tsuen, 1979; Fisher y Bender, 1976; Carpenter, 1981).

El grano de frijol crudo contiene varios factores antinutricionales, la mayoría de ellos termolábiles. Dichos factores son: Inhibidores de enzimas (amilasa, tripsina y quimotripsina); hemaglutininas; ácido fítico; promotores de flatulencia; saponinas; isoflavonas; agentes bociogénicos; glucósidos cianogénicos y factores antivitaminicos (Valle, 1986; Oberleas, 1973; Erdman; 1979).

El frijol cocido muestra un valor nutricional bajo como consecuencia de factores antinutricionales remanentes y de su conocida deficiencia en aminoácidos azufrados.

3.5 PROCESO DE ENDURECIMIENTO

Se conoce como proceso de endurecimiento al conjunto de eventos de orden físico, químico y bioquímico que originan el deterioro físico, químico y nutricional del grano almacenado inadecuadamente.

Antes de continuar es preciso aclarar que las investigaciones relacionadas al endurecimiento del frijol, se enfocan única y exclusivamente al grano destinado para consumo humano y en lo que respecta a las características de cocción, al grano endurecido por condiciones inadecuadas de almacenamiento; ya que también existen granos recién cosechados que presentan diferencias en el tiempo de cocción, debidas principalmente a factores inherentes al grano que a su vez son debidos a aspectos de orden genético-agronómico (Figura

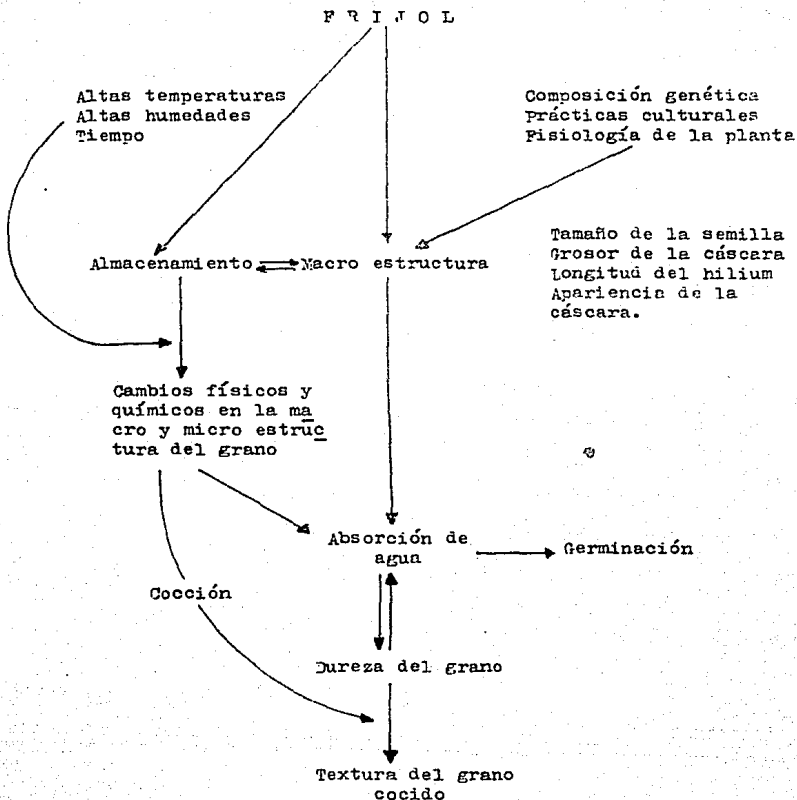


FIGURA 2 Hipótesis sobre el proceso general de endurecimiento del frijol (Elías, 1982).

ra No. 2).

Las investigaciones relacionadas al tema del endurecimiento son bastante recientes, no así el problema como tal. A continuación se presentará una breve revisión de los aspectos más relevantes de dichas investigaciones:

La velocidad y el grado de endurecimiento dependen de las características fisicoquímicas del grano así como también de las condiciones de almacenamiento, de éstas en orden de importancia se encuentran: el contenido de humedad del grano; la temperatura, la humedad relativa y el tiempo de almacenamiento (Elías, 1982; Moscoso, 1982; González, 1982; Moreno y col., 1986; Moreno y Ramírez, 1987).

El fenómeno de endurecimiento comprende las categorías siguientes:

Granos de cáscara dura (hard shell), éstos presentan problemas de permeabilidad de la cáscara al agua, lo que se refleja en una capacidad de hidratación lenta que afecta directamente el proceso de germinación e indirectamente las propiedades de cocción.

Granos difíciles de cocer (hard to cook), éstos presentan problemas de permeabilidad de los cotiledones al agua, aparentemente el grano presenta una capacidad de hidratación normal, sin embargo, el agua se encuentra entre la testa y los cotiledones. (molina, 1975; Jackson, 1981; Moscoso, 1982; Moreno, 1986).

El término capacidad de hidratación o absorción de agua por parte del grano, es un parámetro fisicoquímico que implica dos aspectos: 1) que se relaciona con la facilidad de penetración del agua a través de la cáscara e testa y 2) a la capacidad de penetración y difusión uniforme del agua a través del cotiledón. Todo esto a su vez está relacionado con la estructura y composición de la testa y cotiledón así como de la relación entre ambos (testa-cotiledón).

El grosor y textura de la testa, tamaño del hilio así como

la forma y tamaño del micrópilo, son responsables de la penetración del agua (Elías, 1982). Estudios posteriores confirman al gro ser de la testa y tamaño del hilio como los principales responsables de la mayor cantidad de agua absorbida durante las primeras 12 horas de remojo, para después ser el contenido de proteína el principal responsable, ésto se puede apreciar más claramente en la Figura No. 3 (Moscoso, 1982; Elías, 1982 y Charley, 1987).

Entre otros factores fisicoquímicos que afectan en mayor o menor grado la capacidad de hidratación se encuentran: tamaño del grano, porcentaje de cáscara, contenido de taninos y pectinas (Moscoso, 1982; Elías, 1982 y Bressani, 1981).

Se ha demostrado que durante el remojo gran parte del agua se queda entre la testa y los cotiledones, cuando se trata de frijol endurecido; mientras que el grano suave no presenta problemas para absorber agua (Jackson, 1981; Elías, 1982 y Moreno, 1986). En la Figura No. 4, se encuentra el patrón general de hidratación del frijol, en tanto que en la Figura No. 5 se encuentran las curvas de hidratación de grano suave y endurecido de frijol.

También se ha encontrado que el frijol endurecido, pierde más sólidos durante el remojo que el frijol suave (Kon, 1979; Jackson, 1981; Varriano-Marston, 1981).

De acuerdo a lo anterior podría pensarse que la capacidad de absorción de agua juega un papel muy importante en la textura del grano durante su cocción, sin embargo, ésto no sucede así, ya que algunos autores sólo la relacionan en la parte inicial del proceso de cocción, puesto que la textura final del grano estará dada por la combinación agua-calor sobre determinados componentes bioquímicos del frijol. En la Figura No. 6 se encuentran los factores que influyen en la textura del frijol.

La combinación agua y calor durante el proceso de cocción desencadena una serie de eventos bioquímicos que originan la suavi

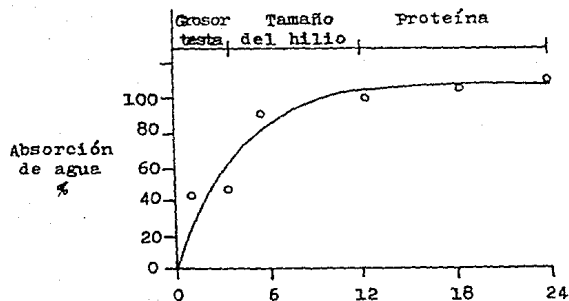


FIGURA 3 Curva de absorción de agua (Elías, 1982).

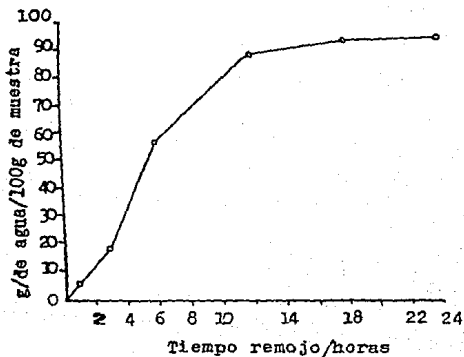
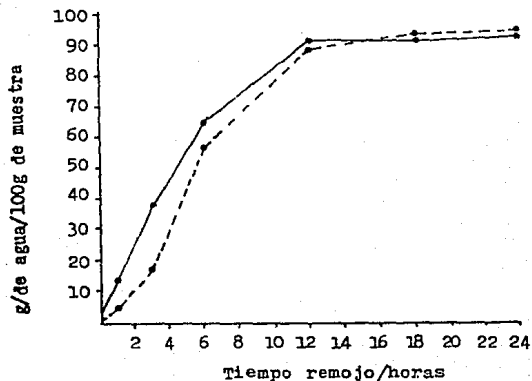


FIGURA 4 Curva de absorción de agua en frijol común (*Phaseolus vulgaris*) recién cosechado (Elías, 1982).



Explicaciones

———— frijol viejo
 - - - - - frijol nuevo

FIGURA 5 Gráfica de absorción de agua en frijol, expresada en gramos de agua absorbida por 100 gramos de muestra contra tiempo de exposición (Elías, 1982).

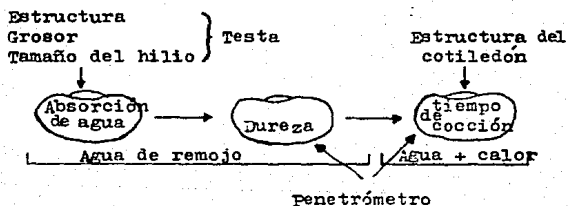


FIGURA 6 Factores que influyen en la textura de las leguminosas (Elías, 1982).

zación del grano, aunque estos eventos moleculares no han sido establecidos con precisión, se ha demostrado que la suavización del grano va acompañada de la solubilización de las pectinas (polímeros metilados del ácido galacturónico asociadas con iones divalentes, principalmente Ca y Mg) que se encuentran localizadas en la pared celular de las células del cotiledón y que tienen como función darle rigidez al grano, por lo que son consideradas las sustancias "cemento" que mantienen las células vegetales juntas. La lamela media es la estructura que mantiene las células juntas.

Durante la cocción la interacción ion divalente-pectina debe disminuir para permitir el intercambio iónico, éste es, los iones Ca y Mg de los pectatos insolubles se intercambian con los iones Na y K de los fitatos solubles, produciéndose fitatos de Ca y Mg así como pectatos solubles de Na y K, estos últimos son los responsables directos de la suavización del grano.

En las primeras fases del proceso de cocción, la lamela media es el componente que primero se suaviza y después se empieza a gelatinizar el almidón, cuando el tejido está completamente cocido la lamela media aparece completamente disuelta, el tiempo que tardan en llevarse completamente a cabo estos eventos, se reflejará en el tiempo de cocción (Kon, 1979; Varriano, 1979; Elías, 1982; Moscoso, 1982; Moreno, 1986; Charley, 1987).

El hecho de que el frijol endurecido presente un aumento en el tiempo de cocción, sugiere anomalías en el curso de los eventos antes descritos. Estas anomalías, no son más que mecanismos que involucran a las mismas sustancias y que se presentan como consecuencia del proceso de endurecimiento. A continuación se mencionan los posibles mecanismos: Cambios en las sustancias pécticas; cambios en el número y/o sitios de interacción ion divalente-pectina; lignificación de la lamela media; disminución del contenido de ácido fítico; alteraciones en el contenido y/o movili

dad de los cationes mono y divalentes; complejos proteínicos con el ácido fítico y procesos de oxidación y polimerización de lípidos (Elías, 1982; Moscoso, 1984; Jackson, 1981; Moreno, 1986; Sievwright, 1986; Takayama, 1965; Molina, 1976; Jones y col., 1983).

Todos los mecanismos mencionados anteriormente afectan en mayor o menor grado el proceso de cocción, sin embargo, algunos de ellos no sólo se limitan a este hecho, si no que también afectan negativamente el valor nutritivo y las características organolépticas del producto. Tal es el caso de los mecanismos que involucran a las proteínas, polifenoles y ácidos grasos. De manera muy breve se hablará de ello.

Los pigmentos que caracterizan los diferentes colores de los granos de leguminosas se encuentran localizados en la testa. Entre éstos, los polifenoles han despertado gran interés en los investigadores debido a que pueden estar relacionados con la dureza de la semilla y el tiempo de cocción mediante dos mecanismos: 1) el de la polimerización activa, principalmente en la testa y 2) el de la proteína lignificada en el cotiledón. Afectando ambos la capacidad de hidratación de la semilla; el primero obstaculizando la penetración de agua y el segundo limitando su capacidad inhibitoria.

Se ha encontrado que el contenido de polifenoles decrece durante el almacenamiento inadecuado, debido aparentemente a la actividad de la polifenol-oxidasa.

Los compuestos resultantes de la unión de proteínas y compuestos fenólicos no son metabolizados por el hombre, de ahí que se diga, que tales compuestos decrecen el valor nutricional del producto. Por otra parte, la pérdida de polifenoles durante el proceso de endurecimiento podría estar relacionado con la pérdida de sabor y color del agua de cocción del frijol endurecido (Elías, 1982, Sievwright, 1986).

La composición de los lípidos aparentemente no tiene relación con el tiempo de cocción, sin embargo, el hecho de que predominen los ácidos grasos insaturados en la composición total de los lípidos, aumenta la probabilidad de oxidación que puede continuar en un proceso de polimerización. Afectándose de esta manera la permeabilidad del cotiledón.

Los procesos de hidrólisis y oxidación de que son objeto los ácidos grasos insaturados son los responsables del deterioro de sabor que en muchas ocasiones presenta el frijol endurecido. (Takaya ma, 1965; Elías, 1982; Moreno, 1986).

Mucho se ha hablado del deterioro nutritivo del frijol endurecido, sin embargo, los trabajos de investigación al respecto son muy pocos y pobres en información, ya que la mayoría de ellos se refieren al % de Digestibilidad "in vitro" y casi nada a la Relación de Eficiencia proteica (PER) que es una medida más directa y objetiva para establecer el verdadero valor nutricional del frijol endurecido. (Bressani, 1982; Sievwright, 1986; Antunes, 1979).

3.6 ACIDO FITICO

El ácido fítico es conocido también como: ácido inositol hexafosfórico; hexafosfato de mioinositol; 1,2,3,4,5,6-ciclohexano hexafosfórico. Estos sólo son algunos nombres de entre otros tantos con los que también se conoce al ácido fítico.

La fórmula del ácido fítico es $C_6H_{18}O_{24}P_6$ las proporciones que guardan cada uno de los elementos que forman parte de él son: C 10.92%, H 2.75%, O 58.18% y P 28.16%. El peso molecular del ácido fítico es 660.08

El ácido fítico es soluble en agua, alcohol al 95%, glicerol y en agua que contenga mezclas de alcohol-éter; muy poco soluble en alcohol absoluto, metanol y prácticamente insoluble en éter

anhidro, benceno y cloroformo.

En la Figura 7A y 7B se encuentran las estructuras más aceptables para el ácido fítico, sugeridas por Anderson y Neuberg.

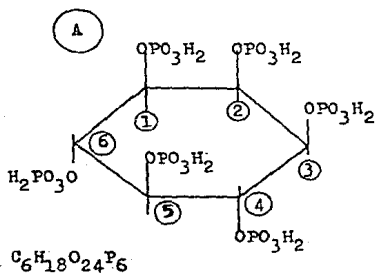
La titulación potenciométrica del fitato de sodio cristalino mostró la presencia de 6 protones fuertemente disociados (pk 3.5) y 6 protones débilmente disociados (pk 4.6-10.0). Estos resultados sostienen la estructura propuesta por Anderson, sin embargo, Brown y col. reportaron que 6 hidrógenos más fueron titulados (estos últimos fueron débilmente ácidos). Este trabajo sostiene a la estructura de Neuberg como la más correcta, pero evidencias adicionales a cada estructura confirman que la de Anderson es la más predominante en los materiales vegetales, sin dejar pasar por alto, la posible existencia de los 2 modelos de ácido fítico. (Erdman, 1979).

Comúnmente existe cierta confusión entre los términos ácido fítico, fitina y fitato, anteriormente se habló del primero, en lo que respecta al segundo término, se denominó trivialmente como fitina a la sal mixta de Ca y Mg del ácido fítico cuya fórmula es: $Ca_5Mg(C_6H_{12}O_{24}P_6 \cdot 3H_2O)$.

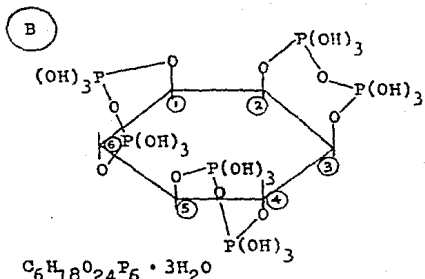
Por último el fitato también llamado hexafosfoinositol, es el grupo anión del ácido fítico, que al unirse a uno o más elementos forma la sal correspondiente. En la Figura 7C se muestra la estructura del fitato de sodio cristalino hidratado.

Al observar la estructura del ácido fítico se puede deducir que es un fuerte agente quelante, esto quiere decir que tiene una gran capacidad de "atrapar" elementos dentro de su estructura y formar así un compuesto químico llamado quelato del ácido fítico, en la Figura 7D se encuentra la estructura de dicho compuesto.

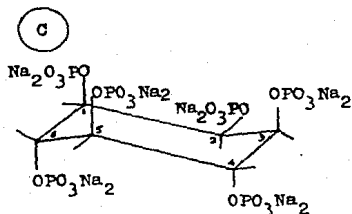
El ácido fítico así como los fitatos representan la fuente más importante de fósforo e inositol en las semillas maduras, ya que del 60 al 90% del fósforo total se encuentra acumulado de esta manera (Oberleas, 1973; Erdman, 1979; Lolas, 1975).



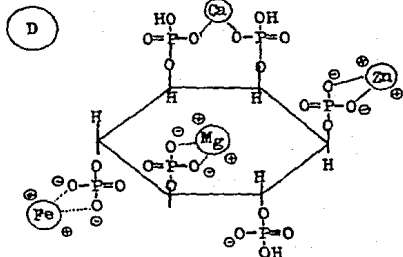
ESTRUCTURA DE ANDERSON



ESTRUCTURA DE NEUBERG



FITATO DE SODIO CRISTALINO
HIDRATADO



QUELATO DEL ACIDO FITICO

FIGURA 7 Estructuras propuestas para el ácido fítico. Estructura 7A sugerida por Anderson y estructura 7B sugerida por Neuberg. (Erdman, 1979). Figura 7C, conformación del fitato de sodio cristalino hidratado (Oberleas, 1973) y figura 7D, estructura propuesta para un quelato del ácido fítico sugerida por Weingartner y Erdman (Erdman, 1979).

La localización del fitato dentro de la semilla varía según el tipo de ésta, por ejemplo, el fitato en maíz se encuentra principalmente en el germen, en el trigo en la capa de aleurona y en arroz en el pericarpio. En las semillas leguminosas no ha sido determinado con exactitud, sin embargo, siempre está asociado con las proteínas (Erdman, 1979; Oberleas, 1973).

Al ácido fítico le han sido atribuidos dos papeles biológicos muy importantes durante la germinación fuente principal de fósforo y de energía (Williams, 1970; Erdman, 1979; García, 1979; Lolas, 1975).

La fitasa es la enzima que degrada al ácido fítico en fósforo inorgánico e inositol. La fitasa también es llamada mio-inositol hexafosfato fosfohidrolasa y tiene la siguiente nomenclatura según la Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica: E.C. 3.1.3.8 (García, 1979; Badui, 1982; Lolas, 1977).

Esta enzima está distribuida ampliamente en plantas, tejido animal y en muchas especies de hongos y ciertas bacterias. La distribución y cantidad de enzima no es proporcional al contenido de ácido fítico.

La fitasa está presente en la semilla madura pero carece de actividad por lo que no degrada a su sustrato. La actividad de la fitasa se incrementa considerablemente durante la germinación, cuando las condiciones de germinación son ideales bastan de 72 a 120 horas para la completa desaparición del ácido fítico. Una temperatura mayor de 65°C ocasiona la inactivación de la enzima (Erdman, 1979; Oberleas, 1973; García, 1979).

El contenido de ácido fítico no es considerado como un valor absoluto porque puede variar dependiendo de la variedad, de las condiciones de cultivo, tipo de suelo y año durante el cual fue sembrado. El contenido de ácido fítico en frijol con cáscara está en un rango de 11.6 a 29.3 mg/g de frijol.

Si bien es cierto que el ácido fítico es una reserva importante de fósforo, ésta no es disponible para humanos ni para organismos monogástricos por carecer del sistema enzimático para degradarlo. Además su presencia en el intestino entorpece la absorción de Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, Co y algunos otros minerales traza (Oberleas, 1973; Erdman, 1979; García, 1979; Valle, 1986; Badui, 1982; Deshpande y col., 1982).

3.7 ABSORCION ATOMICA

La utilidad potencial de la absorción atómica para el análisis de elementos metálicos fue sugerida inicialmente por Walsh y per Alkemade y Milatz en el año de 1955. Desde entonces se han elaborado métodos para la determinación de 65 elementos y se han diseñado numerosos instrumentos comerciales específicamente para este tipo de análisis.

En un análisis de absorción atómica el elemento que se va a determinar es reducido al estado elemental, vaporizado e introducido en un haz de radiación procedente de la fuente. Este proceso se logra más frecuentemente llevando un soluto de la muestra como fina niebla a una llama apropiada. La llama desempeña así una función análoga a la de la celda y la solución en la espectroscopía de absorción ordinaria.

El espectro de absorción de un elemento en su forma atómica gaseosa, consta de una serie de estrechas líneas bien definidas que surgen de transiciones electrónicas de los electrones exteriores. Como las líneas de absorción son tan estrechas y las energías de transición son únicas para cada elemento, los métodos analíticos basados en este tipo de absorción son potencialmente muy específicos.

Un instrumento para mediciones de absorción atómica posee

los mismos componentes básicos que un espectrofotómetro para medir la absorción de soluciones. Estos son: una fuente, un monocromador, un recipiente de muestra (en este caso una llama), un detector y un amplificador-indicador (Skoog, 1986).

IV. M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

Se trabajó con lotes de frijol de las variedades Michigan 800 (M), Negro Huasteco (NH) y Ojo de Cabra; que según estudios sobre almacenamiento realizados por Moreno (1987) son resistente, de susceptibilidad intermedia y alta susceptibilidad al endurecimiento, respectivamente. El tamaño de cada lote fue de 15.0 Kg aproximadamente. Los lotes fueron proporcionados por el INIA (Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Chapingo Edo. de México) y corresponden al ciclo agrícola primavera-verano 1986.

Cada lote fue debidamente homogenizado y dividido en dos partes iguales, una de ellas quedó como muestra suave o control y la otra fue almacenada bajo las siguientes condiciones: 75% HR y 60°C durante 40 días (según Moreno (1987) estas condiciones son las más drásticas para el endurecimiento). El almacenamiento se llevo a cabo en el Departamento de Micología del Instituto de Biología, UNAM.

A todas las muestras suaves y endurecidas se les caracterizó de la siguiente manera:

4.1 CARACTERIZACION TECNOLOGICA

- 4.1.1 METODOS FISICOS (Elías, García y Bressani, 1986)
Porcentaje de granos dañados, rotos o extraños; porcentaje de impurezas; medición del grano; peso de 1000 granos; peso hectolítrico; densidad relativa; porcentaje de cáscara; porcentaje de absorción de agua y tiempo de cocción.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- El lote fue homogenizado y se tomó la muestra tal cuál venía en él para llevar a cabo las dos primeras determinaciones (% de granos dañados, rotos o extraños y % de impurezas), posteriormente se limpió manualmente el resto del lote. Del lote limpio se tomó la muestra para las siguientes deter

minaciones.

PROCEDIMIENTO.- Ver en el apéndice la descripción detallada de cada una de las técnicas utilizadas.

La determinación del porcentaje de absorción de agua se realizó en frijoles con cáscara y sin ella. La eliminación de ésta se hizo manualmente y sin que el grano fuese remojado.

4.2 CARACTERIZACION QUIMICA

4.2.1 ANALISIS PROXIMAL (AOAC, 1980)

Humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda, fibra cruda y carbohidratos asimilables.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- Del lote se tomó una muestra representativa de 50g aproximadamente. Se procedió a molerla (molino CeCoCo TipoD), tamizarla (malla60) y la harina así obtenida es la que se utilizó para determinar el análisis proximal.

PROCEDIMIENTO.- Ver en el apéndice la descripción detallada de cada una de las técnicas utilizadas.

Una vez que a cada uno de los lotes se les efectuaron las de terminaciones anteriores, se apartó aproximadamente 20g de muestra de cada uno de ellos y el resto del lote se dividió en tres partes iguales de 2.0 Kg aproximadamente cada una. La primera de ellas se sometió a un proceso de cocción, la segunda se germinó y la última se sometió a un tratamiento térmico alcalino. A continuación se ex plican con detalle cada uno de éstos.

PROCESO DE COCCION.- En una ella de presión que contenía 4 litros de agua, se adicionaron 2.0 Kg de frijol limpio, lavado y escurrido. El frijol se dejó cocer durante 30 min a 15 lb/in².

PROCESO DE GERMINACION.- En charolas de metal recubiertas in teriormente con varias capas de toallas de papel húmedas, se espar

cieron porciones de frijol limpio, lavado y escurrido de tal manera que quedaran espacios libres entre grano y grano. Posteriormente se cubrieron los granos con varias capas de toallas de papel húmedas.

Las charolas se mantuvieron en la obscuridad y bajo una temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. La humedad en el interior de las charolas se mantuvo constante durante este tiempo.

TRATAMIENTO TERMICO ALCALINO.- En un recipiente que contenía 4 litros de agua, se adicionaron los 2.0 Kg de frijol limpio lavado y escurrido así como $\text{Ca}(\text{OH})_2$ al 0.3%. Se mantuvo en ebullición durante 20 min, después se retiró del fuego y se dejó reposar de 12 a 14 horas (toda la noche), transcurrido este tiempo el frijol se escurrió.

Después de llevar a cabo estos procesos, se apartaron 20.0g de muestra de cada uno de los lotes tratados. Estas muestras y las tomadas con anterioridad fueron las que se utilizaron para determinar el contenido de ácido fítico y el de los iones Ca y Mg. El resto del lote se utilizó para la caracterización nutricional.

4.2.2 CONTENIDO DE ACIDO FITICO (Haug y Lantzsch, 1983)

No existe un reactivo específico para determinar el ácido fítico por lo que se determina de una manera indirecta (Oberleas, 1973). El contenido de ácido fítico se determinó utilizando un método descrito para la determinación colorimétrica de 1.5-15 μg de fitate en concentraciones tan bajas como 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en el extracto. El ácido fítico es precipitado con una solución ácida de Fe^{3+} de concentración conocida. El decremento de hierro (determinado coloriméricamente con 2,2'-bipiridina) en el sobrenadante es una medida del contenido de ácido fítico. Este método es una modificación del método originalmente descrito por Young en 1936 (Haug y Lantzsch, 1983).

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- Al grano de frijol que se tomó como muestra, se le quito manualmente la cáscara o testa y el embrión, en el caso particular de las muestras tomadas antes de someter las letes a los tratamientos, se eliminaron sin que el grano fuese remojado.

Los cotiledones y las cáscaras se secaron y posteriormente se molieron por separado (Molino CeCoCo Tipo D). La harina de los cotiledones se tamizó (malla 80) y se desengrasó (AOAC, 1980). Esta es la harina que se utilizó para la determinación.

REACTIVOS

- (1) Solución de fitatos de referencia.- Pesar 0.15g de la sal de sodio del ácido fítico (SIGMA, pureza 98% y 11% H₂O) y disolverla en 100ml de agua destilada (solución stock). Las soluciones de referencia son preparadas por dilución de la stock con HCl en un range de 3 a 30 μ g/ml. La concentración final del HCl en las soluciones de referencia deberá ser 0.2N.
- (2) Solución de hierro.- Disolver 0.2g de sulfato férrico amónico. 12H₂O (FeNH₄(SO₄)·12H₂O), en 100ml de HCl 2.0N y aferrar a 1000 ml con agua destilada.
- (3) Solución de 2,2'-bipiridina.- Disolver 10.0g de 2,2'-bipiridina y 10ml de ácido tioglicólico en agua destilada y aferrar a 1 000 ml.

PROCEDIMIENTO.- En un matraz erlenmeyer de 25ml, se colocaron 0.5 de la harina obtenida con anterioridad, se agregaron 9.0ml de Na₂SO₄ al 10% y 1.0ml de HCl 2.0N. La mezcla se agitó mecánicamente durante 24h a 4°C, transcurrido este tiempo se centrifugó el contenido del matraz (Janetzki K24) durante 50 min a 3000 rpm a 4°C.

Se transfirió 0.5ml del sobrenadante a un tubo de ensaye y se adicionó 1.0 ml de la solución 2. El tubo se tapó con una can-

ca y se mantuvo en un baño de agua hirviendo durante 30 min. Transcurrido este tiempo el tubo se sacó y se dejó enfriar, luego se introdujo en agua de hielo por espacio de 15 min, posteriormente se sacó del agua y se dejó a que adquiriera la temperatura ambiente, finalmente el contenido del tubo se centrifugó (Janetzki K24) durante 30 min a 3000 rpm.

Se transfirió 1.0ml del sobrenadante a un tubo de ensayo y se adicionó 1.5ml de la solución 3. Se midió la absorbancia (SPECTROPHOTOMETER Shimadzu UV-120-02) a 519 nm contra un blanco de agua destilada.

Con anterioridad se corrió la curva estándar de ácido fítico en un rango de 3 a 30 μ g/ml, lo que representa de 1.2 a 11.7 ml aproximadamente de la solución stock.

4.2.3 CONTENIDO DE IONES Ca Y Mg (Por absorción atómica)

Para esta determinación se utilizaron tanto la harina de los cotiledones como la de las cáscaras.

La preparación de las muestras y la determinación se llevaron a cabo en el Laboratorio de Absorción Atómica de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, UNAM.

4.3 CARACTERIZACION NUTRICIONAL METODOS QUIMICOS

4.3.1 DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" DE LA PROTEINA

Se evaluó por el Método de Akbson y Stahmann (1964) y el contenido de proteína se determinó por Macrokjeldahl (AOAC, 1980).

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- Se utilizaron las muestras obtenidas (únicamente los granos de frijol) de la determinación del tiempo de cocción. Se tomaron muestras de 10g aproximadamente, se secaron y después se molieron (molino CeCoCo Tipo D), por último se tamizó la muestra (malla 80) y la harina obtenida fue la que se

utilizó para la determinación.

PROCEDIMIENTO.- Ver en el apéndice la descripción detallada del método utilizado.

MÉTODOS BIOLÓGICOS

4.3.2 RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (PER)

Específicamente este ensayo biológico mide el peso corporal ganado por gramo de proteína consumida. Se determinó según recomendación de Osborne, Mendel y Ferry (1919).

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- Las muestras utilizadas para este ensayo fueron las correspondientes a los procesos de cocción, germinación y tratamiento térmico alcalino (las muestras obtenidas de los dos últimos procesos, posteriormente fueron cocidas según el proceso de cocción descrito anteriormente). Todas las muestras fueron secadas en un secador de charolas al vacío (J.P. Devine CO) bajo las siguientes condiciones: Presión de vapor 15 lb/pg² vacío de la cámara 20 Kg/cm² y temperatura en el interior de la cámara de 80°C.

Esta operación fué realizada en el Laboratorio de Ingeniería Química de la Facultad de Química, UNAM.

Quando todas las muestras estuvieron secas, se procedió a molerlas (Molino CeCoCo Tipo SC) hasta obtener una harina que pasara la malla 40. Con esta harina se prepararon las dietas correspondientes.

PREPARACION DE LAS DIETAS.- Considerando el análisis proximal de cada una de las muestras a estudiar y tomando en cuenta que el porcentaje de proteína que es necesario para este estudio biológico es del 10%, se hicieron los cálculos correspondientes para obtener a partir de las muestras una dieta isoproteica e isocalórica que además proporcionara los nutrientes necesarios en las cantidades adecuadas.

Una vez que estuvieron integrados todos los componentes de la dieta, ésta fue marcada con una sustancia indigerible conocida como pan de cromo (ver en el apéndice la forma de preparación). La dieta se homogenizó en un mezclador de polvos (construido por el Centro de Instrumentos, UNAM) durante 20 min. Esta operación se realizó con cada una de las dietas.

Se estudiaron un total de 20 dietas, 18 de ellas corresponden a las muestras suaves (S) y endurecidas (E) bajo los procesos de cocción (C), germinación (G) y tratamiento térmico alcalino (TTA). Las dos restantes pertenecen a las dietas de referencia e control (Caseína (CAS)).

La composición química y el valor energético de cada una de las dietas que se utilizaron se encuentra en el Cuadro No. 8, mientras que la composición de la mezcla de vitaminas y minerales se encuentra en el Cuadro No. 13 y 14 respectivamente (Apéndice).

ANIMALES.- Para este estudio se utilizaron ratas cepa Wistar, machos recién destetados (21 a 23 días de nacidos) de la colonia del Bioterio de la Facultad de Química, UNAM. El peso de cada animal oscilaba entre los 45 y 50g.

PROCEDIMIENTO.- El primer día se pesaron los animales para integrar los grupos o lotes con ejemplares de pesos semejantes, utilizándose el método de la culebra. Cada lote estuvo integrado por seis animales y la diferencia de peso entre los lotes no fue mayor de 5.0g. Al azar se decidió que dieta le correspondería a cada lote así como también la colocación de los animales en el estante de jaulas, procurando eliminar la variable condiciones ambientales.

Una vez que los animales quedaron colocados en jaulas individuales en el estante, se les proporcionó agua y alimento ad libitum durante los 28 días que duró la prueba.

Resulta oportuno aclarar que dado el número de dietas que se

estudiarían, se necesitaban 120 animales por lo que fue necesario realizar la prueba en dos etapas, considerando las implicaciones que ello tiene.

Los datos individuales que se registraron a lo largo del experimento fueron: peso del animal (una vez por semana) así como el peso del alimento consumido y desperdiciado por éste (cada tercer día).

A partir de los últimos 5 días de la prueba se recolectaron las heces de todos los integrantes de un mismo lote, esta operación se repitió con cada uno de los lotes.

Las condiciones ambientales del cuarto donde se trabajó durante las dos etapas son las siguientes:

		1ª etapa	2ª etapa
Temperatura (°C)	Max	20.7	21.2
	Min	20.3	20.1
Humedad Relativa (%)		55.85	59.35

y en ambas etapas iluminación 12h y oscuridad 12h

Al finalizar la prueba biológica, se calculó en forma individual el PER experimental, para obtener un valor promedio cuando los datos fuesen promediables, en caso contrario fueron eliminados aquellos datos que no lo eran.

Para efectos de comparación bibliográfica se calculó el PER ajustado, tomando como referencia el PER de caseína que tiene un valor de 2.5.

A partir de las siguientes fórmulas se calculó el PER experimental y el PER ajustado:

$$PER_{exp} = \frac{\text{Peso ganado en gramos}}{\text{Proteína ingerida en gramos}}$$

$$PER_{ajustado} = PER_{exp} \times \frac{PER \text{ caseína (referencia)}}{PER \text{ caseína (exp)}}$$

Los resultados obtenidos fueron tratados estadísticamente.

4.3.3 DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA USANDO Cr_2O_3
COMO MARCADOR EN LAS DIETAS (Schurch y col., 1950)

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.- La recuperación del Cr_2O_3 se hizo a través de la recolección de heces 5 días antes de que finalice la prueba.

Se mezclaron todas las heces de las 6 ratas del lote y se extendieron en una charola de aluminio, después fueron secadas a 100°C durante 24h, posteriormente fueron molidas en un mortero y se tamizaron a través de la malla 40. La harina obtenida de esta manera fue la que se utilizó para la determinación.

PROCEDIMIENTO.- Ver en el apéndice la descripción detallada del método utilizado.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro No. 2 se encuentran los resultados correspondientes a la caracterización física del grano suave y endurecido.

En primer lugar, la medición del grano es una determinación importante, debido a que en base a sus resultados se puede clasificar el tamaño del grano y de una manera indirecta conocer la homogeneidad del lote.

Los resultados correspondientes a esta determinación, revelan que no existen diferencias significativas entre el tamaño del grano suave y el del endurecido, por lo que se puede pensar que el endurecimiento no modifica visiblemente el tamaño del grano.

Con base en los resultados obtenidos, el grano de frijol Michigan es el de menor tamaño en comparación con el de Negro Ruastoco y Ojo de Cabra, que son de tamaño mediano y grande respectivamente. Por último se puede considerar que los lotes fueron homogéneos respecto al tamaño del grano.

Con respecto a la siguiente determinación, la presencia de sustancias extrañas, se puede decir sin lugar a dudas, que el parámetro que mayor información proporciona es el porcentaje de granos dañados o rotos, ya que éste es un reflejo directo del tipo de manejo que recibió el grano. De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede apreciar que existe un aumento de este porcentaje en las muestras endurecidas, lo que obliga a pensar que el proceso de endurecimiento es el único responsable de dicho incremento, ya que el manejo posterior al almacenamiento fue mínimo.

El peso de los 1000 granos revela que el frijol endurecido pierde peso durante la etapa de almacenamiento, este resultado tiene un análisis más profundo posteriormente (análisis proximal).

Los resultados del peso hectolítrico y densidad relativa para las muestras suaves tienen un valor superior que para las mues-

CUADRO No. 2 CARACTERIZACION FISICA DEL GRANO DE FRIJOL SUAVE Y ENDURECIDO.

DETERMINACION		MICHIGAN SUAVE	MICHIGAN ROTO	NEGRO HUASTECO SUAVE	NEGRO HUA TEOCO ROTO	CJC DE CABRA SUAVE	CJC DE CABRA ROTO*
MEDICION DEL FRIJOL							
ALTIMA	\bar{x} σ^2	0.80 0.04	0.75 0.05	0.96 0.08	0.94 0.10	1.23 0.08	1.25 0.08
GROSOR	\bar{x} σ^2	0.48 0.02	0.46 0.02	0.45 0.03	0.45 0.04	0.49 0.07	0.50 0.04
ANCHO	\bar{x} σ^2	0.55 0.03	0.51 0.04	0.65 0.05	0.64 0.05	0.67 0.03	0.67 0.04
PRESENCIA DE SUSTANCIAS EXTRANEAS (%)							
FRIJOL LIMPIC		97.93	96.13	98.18	97.53	98.47	97.01
BAZURA		0.15	0.18	0.39	0.45	0.25	0.29
CFRA. VARIEDAD		0.03	0.02	0.13	0.08	0.11	0.05
FRIJOL ROTO		1.87	3.64	1.27	1.92	1.15	2.64
PESO HECTOLITRICO (Kg/100 lt)							
		85.82	83.01	83.23	79.35	83.44	83.25
PESO DE 1000 GRANOS (g)							
		134.7	130.3	190.9	186.5	278.0	271.6
DENSIDAD RELATIVA (g/ml)							
		2.03	1.33	2.01	1.37	1.87	1.31
% DE CASCARA							
		8.73	10.99	8.73	10.16	10.11	10.66

* Endurecimiento a 60°C y 75% UR durante 40 días

tras endurecidas, estos resultados son lógicos, si se piensa en el hecho de que si un frijol suave y uno endurecido tienen el mismo tamaño (ocupan el mismo espacio), pero el primero pesa más que el segundo, entonces el cociente de la relación peso/volumen como lo es el peso hectolítrico y la densidad relativa aumentará o disminuirá en relación directa al peso del grano.

De acuerdo a los resultados correspondientes al porcentaje de cáscara y en base a los valores de referencia, se puede clasificar el contenido de cáscara de cada una de las variedades (suaves y endurecidas) de la siguiente manera:

VARIEDAD	valores menores del 8% BAJO	valores de 8 a 10% INTERMEDIO	valores mayores del 10% ALTO
M _S		x	
M _E			x
NH _S		x	
NH _E			x
OC _S			x
OC _E			x

Como puede apreciarse todas las variedades a excepción de M_S y NH_S, presentan un contenido de cáscara alto, sin embargo, se esperaba que las variedades de grano más pequeño tuvieran mayor porcentaje de cáscara que las variedades de grano más grande.

Por otro lado los resultados indican que las muestras endurecidas contienen un mayor porcentaje de cáscara que las suaves, esto posiblemente se debe a los procesos de lignificación de proteína y lamela media que se llevan a cabo durante el proceso de endurecimiento. De acuerdo a este razonamiento, el incremento en el porcen

taje de cáscara, debe interpretarse más bien como un incremento en el grosor de la misma, por lo que se puede pensar que la cáscara de las muestras suaves es más delgada que la de las muestras endurecidas y que a su vez puede tener una relación directa con el comportamiento de las muestras durante la absorción de agua.

Pasando a los resultados del porcentaje de absorción de agua Cuadro No. 3 (variedades con cáscara), Cuadro No.4 (variedades sin cáscara) y Figuras 8, 9, 10 y 11, de manera general se puede decir que tanto las muestras suaves como las endurecidas con y sin cáscara, presentan un mismo tipo de curva aunque como es lógico pensar cada variedad tiene su curva particular.

En estos resultados se puede observar que existe una clara tendencia de las muestras endurecidas con cáscara a tardarse más tiempo en absorber agua, lo que debe tener cierta relación con el incremento en el porcentaje de cáscara, que como explicado en su momento se traduce finalmente en una cáscara más gruesa, que de una u otra forma modifica la velocidad de absorción de agua, por lo que podría pensarse en un endurecimiento de cáscara como el fenómeno que afecta principalmente esta velocidad de absorción.

Al comparar los resultados de las muestras suaves y endurecidas con y sin cáscara para cada variedad se puede observar lo siguiente: La variedad Michigan suave y endurecida con cáscara, absorbe más rápido el agua que las otras dos variedades, sin embargo, la misma variedad suave y endurecida pero sin cáscara, es la que absorbe menos agua, por lo que se puede pensar que la variedad Michigan no tiene problemas para que el agua atravesase la cáscara, pero si los tiene para que ésta penetre y se difunda uniformemente a través del cotiledón. En lo que respecta a Ojo de Cabra, se encuentra que las muestras suaves y endurecidas con cáscara absorben muy lentamente el agua, en tanto que las mismas muestras (suaves y endurecidas) pero sin cáscara absorben rápidamente ésta. Por ello

CUADRO No. 3

¿ DE ABSORCIÓN DE AGUA DE LAS VARIETADES SUAVE Y DURAS CON CASCALA.

TIEMPO (h)	¿ DE ABSORCIÓN DE AGUA					
	MICHIGAN SUAVE	MICHIGAN DUR	NEGRO HUASTECO SUAVE	NEGRO HUASTECO DUR	C/O DE CABRA SUAVE	C/O DE CABRA DUR
0	0	0	0	0	0	0
1	80	54	19	7	0	0
2	88	86	37	15	0	0
3	95	90	52	25	1	0
4	98	96	65	40	2	1
5	98	98	75	40	5	1
6	100	98	83	58	7	1
7	-	98	91	69	13	2
8	-	-	95	-	18	-
21	-	-	100	-	64	-
30	-	100	-	95	-	42
48	-	-	-	-	72	-
72	-	-	-	-	87	-
74	-	-	-	100	-	83

GRÁFICO No. 4 % DE ABSORCIÓN DE AGUA DE LAS VARIETADES SUAVES Y PEGULOSAS SIN CÁSCARA.

TIEMPO (HRS)	% DE ABSORCIÓN DE AGUA					
	MICHIGAN SUAVE	MICHIGAN END	NEBRO HUASTECC SUAVE	NEBRO HUASTECC END	CJC DE CABRA SUAVE	CJC DE CABRA END
0	0	0	0	0	0	0
0.5	27	24	33	32	30	34
1.0	46	54	51	57	30	57
1.5	61	66	64	68	63	67
2.0	69	76	75	80	70	84
2.5	73	80	82	87	80	90
3.0	74	82	84	91	87	94
3.5	75	83	86	92	88	96
4.5	77	84	88	93	89	97
5.5	78	86	92	94	90	100
6.5	81	87	93	94	91	100
7.5	83	87	94	94	91	100

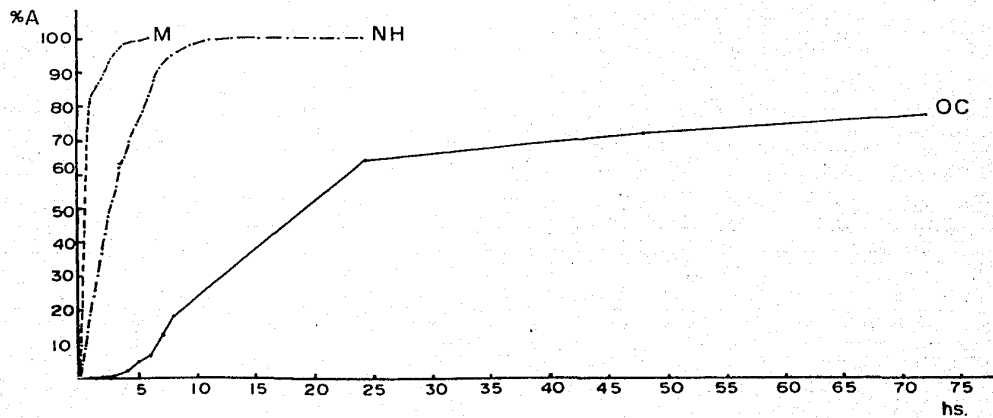


Fig. No. 8-Absorción de agua en Variedades Suaves (con cáscara).

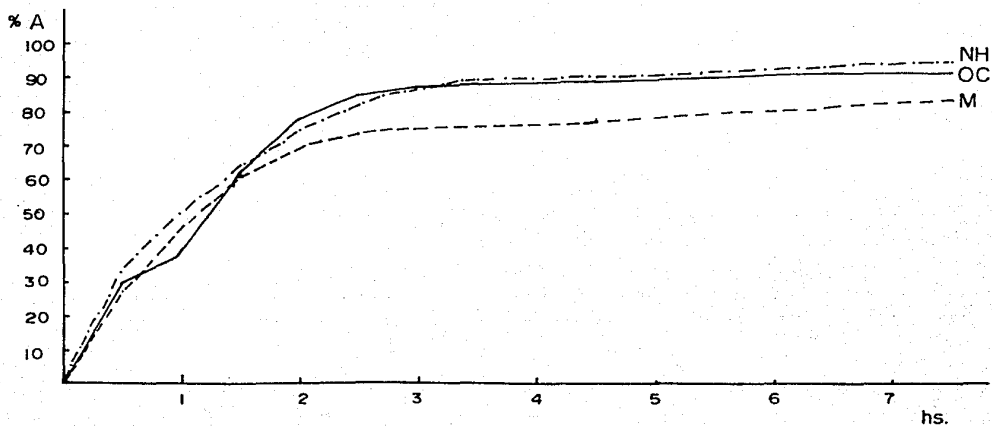


Fig.No. 9 .- Absorción de Agua en Variedades Suaves (sin cáscara).

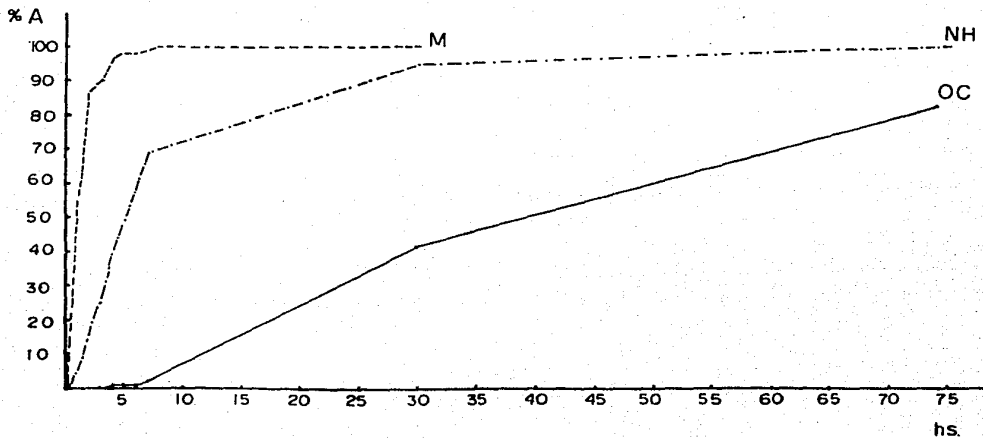


Fig.No.10.- Absorción de Agua en Variedades de Frijol Endurecido (con cáscara).

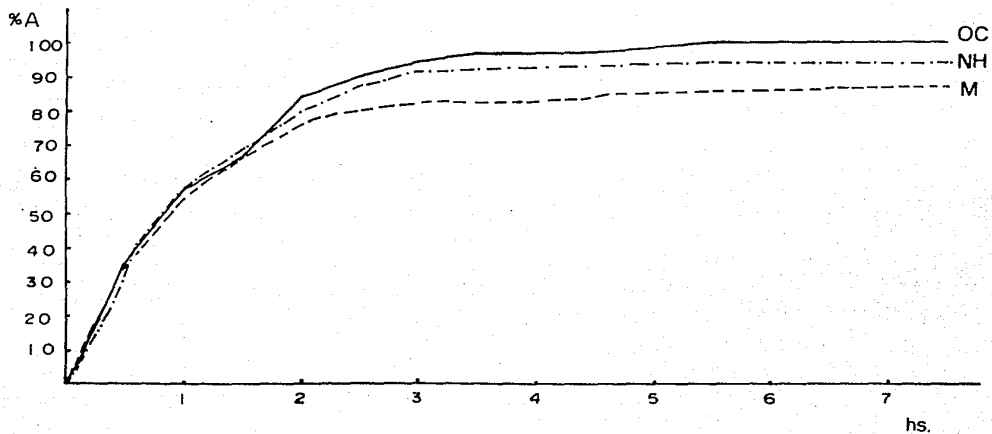


Fig.No.II.- Absorción de Agua en Variedades de Frijol Endurecido (sin cáscara).

se puede suponer que esta variedad presenta problemas de penetración a través de la cáscara no así de penetración y difusión uniforme a través de los cotiledones. Finalmente las muestras suaves y endurecidas de la variedad Negro Huasteco con y sin cáscara, presentan un comportamiento similar, es decir no presentan tendencia hacia ninguno de los dos comportamientos antes mencionados.

En el Cuadro No. 5 se encuentran los resultados correspondientes al análisis proximal de las muestras suaves y endurecidas. Lo más sobresaliente de estos resultados, es el decremento en el contenido de humedad que presentan las muestras endurecidas, lo que posiblemente se deba al efecto de las drásticas condiciones de almacenamiento sobre este componente. La variedad que experimentó la mayor pérdida de dicho componente fue Ojo de Cabra siguiéndole Negro Huasteco y Michigan. En lo que respecta a los demás componentes existen pequeñas diferencias entre los valores de las muestras suaves y los de las endurecidas, las que pueden ser atribuidas principalmente a los mecanismos que se llevan a cabo durante el almacenamiento y que involucran a tales componentes, como por ejemplo, en el caso de las proteínas el decremento puede deberse a los procesos de lignificación así como a la formación de complejos con taninos y fitatos; del mismo modo existe una explicación para la disminución del contenido de grasa en las muestras endurecidas, la cual se basa principalmente en los procesos de oxidación, hidrólisis y polimerización de que son objeto dichos componentes.

En el mismo cuadro se encuentran los resultados del tiempo de cocción de las muestras suaves y endurecidas, pero debido a la relación de este parámetro con el contenido de ácido fítico y de los iones Ca y Mg, el análisis estos resultados se realizará posteriormente.

También en el cuadro No. 5 se encuentran los resultados correspondientes al % de Digestibilidad "in vitro" de las muestras

CUADRO No. 5 COMPOSICION QUIMICA DEL FRIJOL SUAVE Y ENDURECIDO B.S. (g/100g).

DETERMINACION	MICHIGAN SUAVE	MICHIGAN END*	NEGRO HUASTECO SUAVE	NEGRO HUASTECO END*	OJO DE GABIA SUAVE	OJO DE GABIA END*
MOJEDAD	8.00	7.23	8.95	6.49	8.14	4.32
CEMIZAS	4.12	4.34	4.22	4.39	4.23	4.56
F. PROTEINA CRUDA	26.52	25.70	26.11	25.53	23.84	23.64
GRASA CRUDA	2.34	1.65	2.25	1.96	2.62	1.65
FIBRA CRUDA	5.33	5.37	4.93	5.11	5.33	6.06
CARBOHIDRATOS ASIMILABLES	61.82	62.92	61.87	63.0	63.25	64.07
TIEMPO DE COCCION (h)	2.0	5.0	3.0	5.0	3.5	5.0
% DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"						
MUESTRA CRUDA	86.93	83.02	93.61	81.20	84.04	82.04
MUESTRA COCCIDA	77.75	66.91	78.0	71.22	76.17	76.58

* Endurecimiento a 60°C y 75% HR durante 40 días.

suaves y endurecidas, crudas y cocidas. En dichos resultados se puede apreciar que las muestras suaves presentan valores superiores a los de las endurecidas, la explicación que se ha encontrado al respecto, sugiere que este decremento se debe a la interacción de las proteínas con compuestos fenólicos así como con el ácido fítico durante el proceso de endurecimiento.

Respecto al hecho de que las muestras crudas (suaves y endurecidas) presenten valores superiores a los de las muestras cocidas (suaves y endurecidas) no es lógico, ya que según se sabe el proceso de cocción incrementa la digestibilidad de las proteínas por hacerlas más disponibles. Sin embargo, estos resultados tienen similitud con los reportados por Hernández, de la Vega y Sotelo (1984) quienes encontraron que la digestibilidad "in vitro" difiere según el método utilizado. Quizá para comprender ambos resultados valga la pena recordar que de manera general la digestibilidad de las proteínas del frijol está limitada por el contenido de fibra cruda, la presencia de algunos factores tóxicos (inhibidores de proteasas, taninos y hemaglutininas) pero principalmente por lo complejo de la estructura terciaria de las proteínas (las enzimas del tracto intestinal no logran digerirla totalmente). De ahí que sea válido pensar que el método utilizado sea el responsable de tales resultados.

Continuando con el análisis de resultados, toca el turno al contenido de ácido fítico en las muestras (Cuadro No. 6). Las muestras endurecidas presentan un decremento en el contenido, lo que posiblemente se deba a que durante el proceso de endurecimiento los cuerpos proteícos (sitio donde se encuentra la fitina y un gran porcentaje (70%) de la proteína citoplasmática) se lisan, favoreciéndose la interacción de la enzima (fitasa) con su sustrato.

Por otra parte, el contenido de ácido fítico en las muestras cocidas, germinadas y bajo tratamiento térmico alcalino también

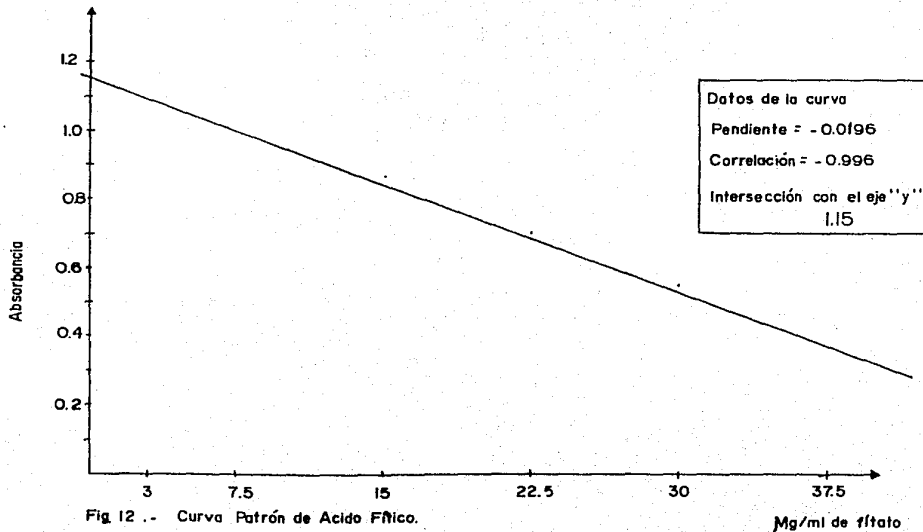


Fig 12 .- Curva Patrón de Acido Ftico.

CUADRO No. 6

CONTENIDO DE ACIDO FITICO EN FRIJOL

		mg de ácido fítico /g de cotiledón*	
VARIEDAD		SUAVE	ENDURECIDA
M	S/T	10.476	8.116
M	C	8.974	5.764
M	G	9.759	7.531
M	TTA	8.553	6.096
MH	S/T	11.131	7.840
MH	C	9.194	4.716
MH	G	9.003	5.155
MH	TTA	7.696	4.874
CC	S/T	10.108	8.714
CC	C	7.322	5.056
CC	G	9.595	7.692
CC	TTA	8.262	6.532

* valor promedio de tres determinaciones.

disminuye (tomando como referencia a la muestra sin tratamiento), ésto era de esperarse debido a la solubilidad del ácido fítico en agua y a que es considerado un factor termolábil, sin embargo, se esperaba que el contenido de ácido fítico en las muestras germinadas fuera el más bajo, debido a que durante la germinación la actividad de la fitasa se incrementa considerablemente originándose de esta manera la subsecuente degradación del ácido fítico. El que es to no haya sucedido sugiere que la actividad de la enzima no se incremento lo suficiente.

En el Cuadro No. 12 se puede apreciar más claramente el porcentaje de ácido fítico perdido por cada tratamiento, de manera general se puede decir que el proceso de cocción y el tratamiento térmico alcalino ocasionaron las mayores pérdidas, en tanto que la variedad Michigan fue la que experimentó la menor pérdida siguiendo la Negro Huasteco y Ojo de Cabra respectivamente.

Debido a que son los más representativos sólo se obtuvieron resultados del contenido de los iones Ca y Mg en cotiledón y cáscara de muestras sin tratamiento. Dichos resultados se encuentran en el Cuadro No. 7.

El contenido de los iones Ca y Mg en el cotiledón de las muestras suaves y endurecidas no presenta diferencias significativas, por lo cuál puede pensarse que el proceso de endurecimiento no afecta o modifica el contenido de estos iones divalentes en el cotiledón.

En lo que respecta al contenido de los iones Ca y Mg en la cáscara de las muestras suaves y endurecidas, se encontró que el Ca es el único ion que se modifica y esto en relación directa al grado de dureza de las muestras (el mayor incremento se presentó en la cáscara de la variedad Ojo de Cabra, después en la de Negro Huasteco y finalmente el menor incremento en la de Michigan).

Estos resultados no concuerdan con los encontrados por

CUADRO No. 7. CONTENIDO DE IONES Ca Y Mg EN COTILEDON Y CASCARA DE FRIJOL.

MUESTRAS SIN TRATAMIENTO	Mg / mg			
	COTILEDON		CASCARA	
	Ca	Mg	Ca	Mg
M _G	513	1623	390	623
M _E	525	1640	425	604
NH _S	505	1519	380	570
NH _E	493	1570	433	590
OC _B	545	1610	340	610
OC _E	505	1592	420	602

Jones y Boutler (1983) así como por los de Moscoso y col. (1984), ya que en estos trabajos se demostró que la cantidad encontrada en la pared celular aislada del frijol endurecido es mayor que en el control, sin embargo, en ambos trabajos el frijol se remojó de 12 a 18 horas antes de obtener la pared celular, lo que pudo permitir la movilización de los iones del interior de las células a la pared celular.

El contenido de estos iones divalentes es importante porque incrementan la rigidez de la substancia péctica en la lamela media por unirse con los grupos libres del ácido urónico, modificando negativamente las propiedades de cocción de los frijoles.

Después de haber analizado los resultados correspondientes al contenido de ácido fítico y de los iones Ca y Mg, se pueden analizar con mayor profundidad los resultados del tiempo de cocción (Cuadro No. 5).

Indudablemente el hecho de que las muestras endurecidas tardan más tiempo en cocerse que las suaves, corrobora lo reportado en la literatura acerca del daño que el endurecimiento ocasiona a esta característica.

Por otro lado también es inegable la estrecha relación entre el contenido de ácido fítico, pectinas y de los iones mono y divalentes con la textura del grano durante el proceso de cocción. Se han realizado varias investigaciones al respecto y de ellas las que más se relacionan con los objetivos del presente trabajo son las de Moscoso (1982 y 1984) así como las de Siewwright y Shipe (1986), en las que se encontró una buena correlación entre el contenido del ácido fítico perdido y la textura del grano, esto es, los frijoles de fácil cocción no experimentan grandes pérdidas de ácido fítico por lo que a un alto contenido de ácido fítico antes del proceso de cocción le corresponde una textura más suave después del mismo.

De acuerdo a lo anterior y en base a los resultados obtenidos se puede decir que la variedad Michigan suave fue la que se coció primero (tiempo de cocción 2h) porque fue la que experimentó la menor pérdida de ácido fítico; en segundo lugar se cocieron los frijoles de la variedad Negro Huasteco suave y finalmente la variedad Ojo de Cabra suave se coció en un tiempo de 3.5h experimentando la mayor pérdida de ácido fítico.

Quando las muestras endurecidas fueron cocidas el resultado que más sorprendió fue el que la variedad Michigan tardará el mismo tiempo en cocerse que las otras dos variedades (5h) puesto que era considerada la variedad resistente al endurecimiento. Este comportamiento de las muestras endurecidas puede ser debido principalmente a la disminución del contenido de ácido fítico que experimentaron durante el endurecimiento así como al incremento en el contenido del ion Ca en la cáscara.

Antes de entrar de lleno a los resultados correspondientes al valor nutritivo del frijol medido como Relación de Eficiencia Proteica (PER), se revisarán brevemente composición química y más específicamente porcentaje de proteína así como valor energético de las dietas utilizadas (Cuadro No. 8). El rango en el que se encuentra la proteína de las dietas en estudio y las de referencia (de 9.73 a 11.28%) con excepción de la dieta de caseína 1 (15.09%) se considera aceptable ya que a este bajo nivel toda la proteína que se consume se utiliza para el crecimiento y no queda sobrante que se oxide, con excepción de la parte que no sirve para síntesis tisular (debido a que su calidad no es la adecuada); de la misma manera el rango en el que se encuentra el valor energético de las dietas (de 380.4 a 406.30 cal/100g de dieta) es el adecuado para llevar a cabo normalmente las funciones metabólicas y evitar excesos que posteriormente pudieran acumularse como grasa .

Ahora sí, entrando de lleno al tema, de manera general se

CUADRO No. 8 COMPOSICION QUIMICA Y VALOR ENERGETICO DE LAS DIETAS UTILIZADAS.

DIETA	VITAMINAS	MINERALES	HARINA DE FRÍJOL	ROSTIL DE MAIZ	AMIDON DE MAIZ	SACAROSA COMUN	CELULOSA	PROTEINAS	VALOR ENERGETICO en kcal
M ₃ C	1.0	4.0	43.0	5.0	35.0	10.0	2.0	10.33	389.74
M ₂ C	1.0	4.0	43.0	5.0	35.0	10.0	2.0	10.85	382.33
M ₃ G	1.0	4.0	39.0	5.0	39.0	10.0	2.0	11.20	397.52
M ₂ G	1.0	4.0	40.0	5.0	38.0	10.0	2.0	10.41	387.63
M ₃ TTA	1.0	4.0	41.0	5.0	37.0	10.0	2.0	10.57	383.72
M ₂ TTA	1.0	4.0	40.0	5.0	38.0	10.0	2.0	10.93	387.35
MH ₃ C	1.0	4.0	46.0	5.0	32.0	10.0	2.0	10.67	376.49
MH ₂ C	1.0	4.0	44.0	5.0	34.0	10.0	2.0	10.35	381.23
MH ₃ G	1.0	4.0	41.0	5.0	37.0	10.0	2.0	11.28	393.98
MH ₂ G	1.0	4.0	39.0	5.0	39.0	10.0	2.0	10.85	388.98
MH ₃ TTA	1.0	4.0	41.0	5.0	37.0	10.0	2.0	10.67	384.14
MH ₂ TTA	1.0	4.0	41.0	5.0	37.0	10.0	2.0	10.85	385.71
OC ₃ C	1.0	4.0	43.0	5.0	35.0	10.0	2.0	11.11	384.42
OC ₂ C	1.0	4.0	44.0	5.0	34.0	10.0	2.0	11.11	382.37
OC ₃ G	1.0	4.0	38.0	5.0	40.0	10.0	2.0	10.15	392.41
OC ₂ G	1.0	4.0	39.0	5.0	39.0	10.0	2.0	10.50	390.64
OC ₃ TTA	1.0	4.0	41.0	5.0	37.0	10.0	2.0	11.02	387.66
OC ₂ TTA	1.0	4.0	43.0	5.0	35.0	10.0	2.0	11.20	384.90
CAS 1	1.0	4.0	11.65*	5.0	66.25	10.0	2.0	15.09	399.48
CAS 2	1.0	4.0	10.0 *	5.0	68.0	10.0	2.0	9.73	406.20

* significa exclusivamente en ambas dietas % de caseína.

CUADRO No.9

VALORES DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (PER).

DIETA	PER EXP.	\bar{U}	PER AJUSTADO*	\bar{U}
M _S C	1.62	0.10	1.49	0.09
M _E C	1.34	0.13	1.23	0.12
M _S G	1.31	0.07	1.20	0.06
M _E G	1.59	0.26	1.46	0.24
M _S TTA	1.53	0.30	1.46	0.29
M _E TTA	1.00	0.09	0.92	0.08
NH _S C	0.97	0.14	0.88	0.12
NH _E C	1.09	0.20	0.99	0.19
NH _S G	1.09	0.19	1.00	0.17
NH _E G	0.99	0.13	0.91	0.12
NH _S TTA	-	-	-	-
NH _E TTA	-	-	-	-
OC _S C	1.23	0.18	1.13	0.16
OC _E C	0.41	0.24	0.37	0.22
OC _S G	0.72	0.23	0.72	0.21
OC _E G	0.83	0.34	0.76	0.31
OC _S TTA	1.01	0.31	0.97	0.29
OC _E TTA	-	-	-	-
CAS 1	2.59	0.31		
CAS 2	2.69	0.24		

* PER ajustado a un valor de 2.5 de caseína.

puede apreciar* que los valores más altos pertenecen a las muestras suaves cocidas (con excepción de Negro Huasteco) después a las muestras suaves germinadas y finalmente a las muestras suaves bajo tratamiento térmico alcalino. Las dietas de las muestras endurecidas mostraron valores inferiores y esto básicamente por el daño que ocasiona el endurecimiento al frijol (pérdida de la capacidad de germinación, aumento del tiempo de cocción, etc.).

A continuación se explica con más detalle porque se utilizaron la germinación y el tratamiento térmico alcalino como métodos alternos para elevar el valor nutritivo del frijol:

Del proceso de germinación ya se tenían antecedentes acerca de que no era un buen método para mejorar el valor nutritivo del frijol, sin embargo, como tales resultados se obtuvieron de germinados crudos de frijol (Necoechea y col. 1981) se pensó en la posibilidad de que cociendo dichos germinados podría verse elevado el valor nutritivo. Desafortunadamente esto no sucedió así.

Se propuso al tratamiento térmico alcalino como un método alterno para elevar el valor nutritivo, debido a que es un tratamiento térmico muy drástico que induce la desnaturalización de la proteína y consecuentemente la de su estructura terciaria, sin embargo, al adicionar iones Ca se indujo en las muestras suaves y se acentuó en las endurecidas severos problemas de suavización que afectaron negativamente su calidad.

De lo anterior se desprende que el valor de PER obtenido en cada una de las dietas no es más que el reflejo del beneficio o daño que el proceso ocasionó sobre las proteínas así tratadas.

Para tener una perspectiva más objetiva de tales resultados los valores de PER de cada una de las dietas se expresaron como % de PER de caseína (Cuadro No. 10 y Figura No. 13), donde se observa que la variedad Michigan (suave y endurecida) es la que experimentó los valores más altos (55.39 a 34.20%), en segundo lu-

*Cuadro No. 9

DEBTA	PBR ajustado (PBR/DEBTA)	σ	PBR CONG A DE PBR DE CASERIO
NH ₃ C	1.49	0.09	55.39
NH ₃ C	1.23	0.12	45.72
NH ₃ G	1.20	0.06	44.60
NH ₃ G	1.46	0.24	54.27
NH ₃ TTA	1.46	0.29	56.37
NH ₃ TTA	0.92	0.08	34.20
NH ₂ C	0.88	0.12	32.71
NH ₂ C	0.99	0.19	36.80
NH ₂ G	1.00	0.17	37.17
NH ₂ G	0.91	0.12	33.82
NH ₂ TTA	-	-	-
NH ₂ TTA	-	-	-
CC ₃ C	1.12	0.16	42.00
CC ₃ C	0.87	0.22	13.75
CC ₃ G	0.72	0.21	26.76
CC ₂ G	0.76	0.31	28.25
CC ₂ TTA	0.97	0.29	37.45
CC ₂ TTA	-	-	-
CAS 1	2.59	0.31	100.00
CAS 2	2.69	0.24	100.00

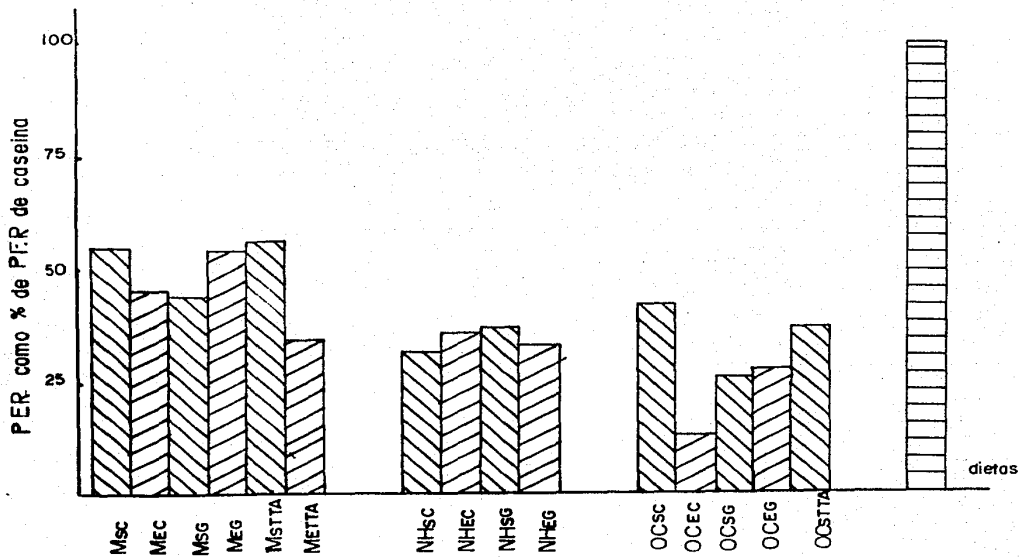


Fig. No.13.- Composición de los valores de PER expresados como % de PER de caseina

gar la variedad Negro Huasteco (37.17 a 32.71%) y finalmente la variedad Ojo de Cabra los valores más bajos (42.0 a 13.75%), resulta pertinente aclarar que no hay valores de PER para las dietas NH_3 , NH_2 y OC_2 debido a el deceso de tres animales en cada lote, lo que originó que los lotes ya no fueran representativos y por lo tanto sus resultados confiables.

De alguna manera debe existir una relación entre el orden que ocupa cada variedad y su contenido de proteína estando intrínseco el contenido y disponibilidad de los aminoácidos esenciales, que finalmente son un indicador de la calidad nutritiva del frijol.

Con los valores de la Digestibilidad Aparente (Cuadro No.11) también se confirma el daño que el endurecimiento ocasiona al valor nutritivo del frijol. La variedad Michigan (suave y endurecida así como bajo cada uno de los tratamientos) presenta los valores más altos, siguiéndole Negro Huasteco y Ojo de Cabra respectivamente. Posiblemente estos resultados tengan relación con el hecho de que los taninos afectan negativamente la digestibilidad (formación de complejos proteína-taninos) de las proteínas. Se ha comprobado que los frijoles blancos tienen una mayor digestibilidad que los de color.

Finalmente, estudios realizados por Sievwright y Shipe (1986) indican que el % de Digestibilidad disminuye a medida que el % de ácido fítico perdido aumenta, esto en frijoles almacenados en condiciones de humedad y temperatura altas.

En el Cuadro No. 12 se encuentran los resultados de una correlación similar (% de Digestibilidad Aparente y % de ácido fítico perdido) durante los procesos de cocción y tratamiento térmico alcalino; en las gráficas No. 1 y No. 2 se pueden apreciar mejor tales resultados.

Efectivamente, conforme aumenta el % de ácido fítico perdi-

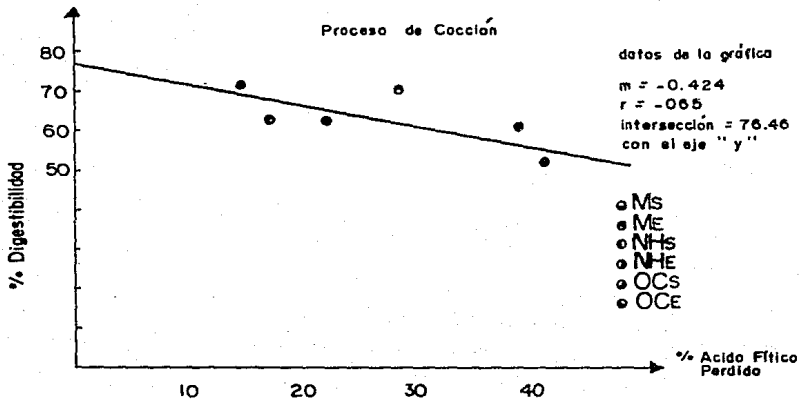
CUADRO N^o. 11 VALORES DE \bar{X} DE DIGESTIBILIDAD
APARENTE (D.A.).

D I E T A	\bar{X} D.A.
M _S C	72.81
M _E C	70.65
M _S G	68.64
M _E G	74.33
M _S TTA	52.15
M _E TTA	35.70
NH _S C	63.09
NH _E C	62.01
NH _S G	66.12
NH _E G	64.52
NH _S TTA	44.67
NH _E TTA	29.93
OC _S C	63.64
OC _E C	53.17
OC _S G	54.70
OC _E G	61.91
OC _S TTA	48.81
OC _E TTA	-

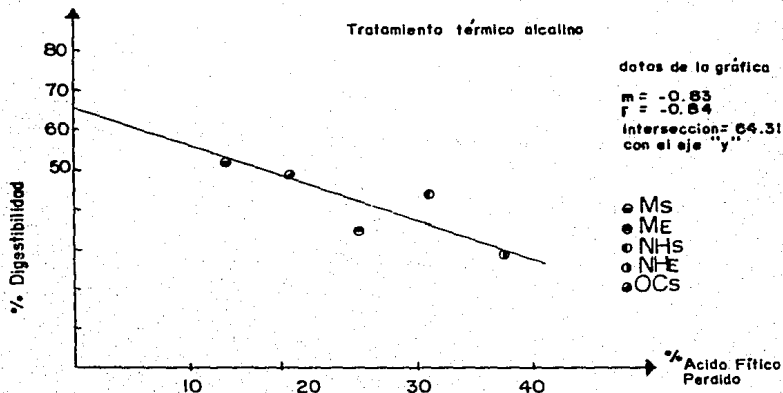
CUADRO No. 12

RELACION ENTRE DIGESTIBILIDAD
Y ACIDO FITICO PERDIDO.

MUESTRA	$\frac{mE \text{ ac. fítico}}{E \text{ de obtención}}$	% ácido fítico	% ácido fítico perdido	% Digestibilidad in vivo
MS S/T	10.476	100%	-	-
ME S/T	8.116	100%	-	-
MS C	8.974	85.66	14.34	72.81
ME C	5.764	71.02	28.98	70.65
MS TTA	8.553	81.64	18.36	52.15
ME TTA	6.096	75.11	24.89	35.70
NHS S/T	11.131	100%	-	-
NHC S/T	7.840	100%	-	-
NHS C	9.194	82.59	17.41	63.09
NHE C	4.716	60.15	39.85	62.01
NHC TTA	7.696	69.14	30.86	44.67
NHE TTA	4.874	62.16	37.84	29.93
OCS S/T	10.108	100%	-	-
OCE S/T	8.714	100%	-	-
OCS C	7.822	77.38	22.61	63.64
OCE C	5.056	58.02	41.98	53.17
OCS TTA	8.262	81.73	18.27	49.81
OCE TTA	6.532	74.95	25.05	-



Gráfica No. 1.- Relación entre % de Digestibilidad y % de Acido Fítico Perdido.



Gráfica No. 2.- Relación entre % de Digestibilidad y % de Acido Fítico perdido

do, disminuye el % de Digestibilidad Aparente. Esta correlación puede observarse con mayor claridad en los resultados correspondientes al tratamiento térmico alcalino.

Esta correlación se da, porque existe una relación directa entre la firmeza de los frijoles y la pérdida de ácido fítico, que a su vez está vinculada con la relación inversa entre el % de Digestibilidad de la muestra y la firmeza de ésta.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- En primer lugar, se encontró discrepancia con los resultados de Moreno (1987) acerca de que la variedad Michigan es resistente al endurecimiento ya que todos los resultados pero principalmente el tiempo de cocción de la muestra endurecida (5 horas) así lo indican.
- El contenido de ácido fítico disminuyó en las muestras endurecidas aceleradamente. Mientras que la naturaleza de cada uno de los tratamientos utilizados, también ocasionó disminución en el contenido de ácido fítico.
- Se encontró movilidad del ion Ca^{2+} hacia la cáscara en el frijol endurecido, en relación directa al grado de dureza del grano.
- La germinación del frijol no mejoro el valor nutritivo del grano, medido como PER, estos resultados coinciden con los reportados por Necoechea, Camacho y Bourges, 1981.
- El tratamiento térmico alcalino resulto un método contraproducente, pues lejos de mejorar el valor nutritivo del frijol (PER) provocó severos daños sobre éste.
- Se confirmó la correlación existente entre la disminución del % de Digestibilidad y el % de ácido fítico perdido.
- El tiempo de cocción está directamente relacionado en el contenido de ácido fítico, ya que si este último disminuye durante el almacenamiento el primero aumentara de manera concomitante.
- La capacidad de absorción de agua está directamente relacionada con las características fisicoquímicas de la cáscara y el cotiledón del grano.

- Sin lugar a dudas, la conclusión más importante desde el punto de vista nutricional, es el efecto negativo del endurecimiento acelerado sobre la calidad nutritiva del frijol (PER, Digestibilidad Aparente y Digestibilidad "in vitro").

Es necesario seguir realizando investigaciones con el fin de aclarar todas las dudas que aún rodean al proceso de endurecimiento, de ahí que se sugieran las siguientes recomendaciones:

- Verificar el grado de susceptibilidad al endurecimiento acelerado de la variedad Michigan.
- Debido a la subjetividad de la determinación del tiempo de cocción por evaluación sensorial, sería recomendable unificar criterios para determinar la textura del grano cocido y así obtener datos más exactos.
- Con respecto a la cáscara, además de la cantidad de la misma sería interesante explorar los aspectos de grosor y textura.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Akesson, W.B. y Stahmann, M. 1964. A pepsin-pancreating digest index of protein quality. J. Nutr. 83:pp 257-261.
- Antunes, P.L. and Sgarbieri, V.C. 1979. Influence of time and conditions of storage on technological and nutritional properties of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Variety Rosinha G2. J. Food Sci. 44: pp 1703-1706.
- A.O.A.C. 1980. Official Methods of Analysis, 13th Ed. Assn. of Offic. Anal. Chem. Washington, D.C.
- Badui, S.D. 1982. Química de los alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, México.
- Bressani, R., Elías, G.L. y De España M. 1981. Posibles relaciones entre medidas físicas, químicas y nutricionales en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Arch. Latinoam. de Nutr. 3: pp 550-570.
- Bressani, R. 1982. El significado alimentario y nutricional del endurecimiento del frijol. Arch. Latineam. de Nutr. 4: pp 945-960.
- Brooks, J.R. and Merr, C.V. 1982. Phytate removal from soy protein isolates using ion exchange processing treatments. J. Food Sci. 47: pp 1280-1282.
- Burr, H.K., Don, S. and Merris, H.J. 1968. Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content and temperature and time of storage. Food Technol. 22: 336.
- Cárdenas, F.F. 1984. Clasificación preliminar de los frijoles en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, SARR Folleto Técnico No. 18
- Carpenter, J.K. 1981. The nutritional contribution of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) in perspectiva. Feed Technol. 35: pp 77-78.

- Charley, H. 1987. Tecnología de los alimentos: Procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos. Ed. LIMUSA México.
- Chávez, E.G. y López Tello L.P. 1979. Efecto del remojo y de la cocción sobre el valor nutricional y las globulinas del frijol bayo. (*Phaseolus vulgaris*). Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- De Boland, A.R., Garner, G.B. and O'Dell, B.L. 1975. Identification and properties of "phytate" in cereal grains and oilseed products J. Food Sci. 44: 774.
- Deshpande, S.S., Shate, S.K., Salunkhe, D.K. and Conferth, D. P. 1982. Effects of dehulling on phytic acid, polyphenols, and enzyme inhibitors of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Food Sci. 47: pp 1846-1850.
- Elías, L.G. 1982. Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento del frijol. Arch. Latinoam. de Nutr. 2: pp 233-257.
- Elías, L.G. García, A.S. y Bressani, R. 1986. Métodos para establecer calidad tecnológica y nutricional del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Publicación INCAP L-33: pp 1-41 Guatemala C.A.
- Erdman, J.W. 1979. Oilseed phytates: Nutritional Implications. J. Am. Oil Chem. Sec. 56: pp 736-741.
- FAO 1977. Food Balance Sheets. Food and Agricultural Organization. Rome.
- Fisher, P. and Bender, A.E. 1976. Valor nutritivo de los alimentos. Ed. LIMUSA-WILEY, México.
- Fukuda, G., Elías, L.G. y Bressani, R. 1982. Significado de algunos factores antifisiológicos y nutricionales en la evaluación biológica de diferentes cultivares de frijol común (*Phaseolus* sp). Arch. Latinoam. de Nutr. 4: pp 945-960.

- García, U.G. 1979. Determinación de ácido fítico. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- González, E.M. 1982. Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de la dureza del frijol. Arch. Latinoam. de Nutr. 2; pp 258-274.
- Gutiérrez, G.V. 1986. Aspectos bioquímicos del endurecimiento de frijol. Tesis profesional. Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F.
- Haug, W. and Lantzech, H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. J. Sci. Food Agric. 34; pp 1423-1426.
- Haytowitz, D.B., Marsh, A.C. and Matthews, R.H. 1981. Content of selected nutrients in raw, cooked and processed legumes. Food Technol. 35; pp 73-74.
- Hernández, M., De la Vega A. y Sotelo, A. 1984. Determinación de la Digestibilidad "in vitro" e in vivo en cereales y leguminosas, crudos y cocidos. Arch. Latinoam. de Nutr. 3; pp 513-522.
- Jackson, G.M. and Varriano-Marston, E. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: Effects of accelerated storage on water absorption and cooking time. J. Food Sci. 46; pp 799-803.
- Jamieson, M. y Jobber, P. 1975. Manejo de los alimentos; ecología del almacenamiento. Ed. PAX-MEXICO México D.F.
- Jones, P.M.B. and Boulter, D. 1983. The cause of reduced cooking rate in Phaseolus vulgaris following adverse storage conditions. J. Food Sci. 48; pp 623-626.
- Kon, S. 1979. Effect of soaking temperature on cooking and nutritional quality of beans (Phaseolus vulgaris). J. Food Sci. 44; pp 1329-1334.

- Kumar, K.G., Venkataraman, L.V., Jaya, T.V. and Krishnamurthy, K.S. 1978. Cooking characteristics of some germinated legumes: changes in phytins, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and pectins. J. Food Sci. 43: pp 85-88.
- Lelas, G.M. and Markakis, P. 1975. Phytic acid and other spherulic compounds of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Agric. Food Chem. 23: pp 13-15.
- Lelas, G.M. and Markakis, P. 1977. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 42: pp 1094-1097.
- Molina, M.R. de la Fuente, G. and Bressani, R. 1975. Interrelationships between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black bean (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 40: pp 587-591.
- Molina, M.R., Baten, M.A., Gómez, R., King, K.W. and Bressani, R. 1976. Heat treatment: a process to control the development of the hard to cook phenomenon in black beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 41: pp 661-666.
- Moreno, E.M., Cárabez, A.T., Bernal, I.L. y Nieto, Z.V. 1986. Endurecimiento del frijol: sus causas, naturaleza, prevención y usos del frijol endurecido. UNAM. 36p.
- Moreno, E. y Ramírez, J. 1987. Comportamiento de siete variedades de frijol almacenadas bajo diferentes temperaturas. Turrialba Vol. 37 No.2: pp 155-160.
- Moscoso, W. 1982. Efecto del almacenamiento a temperaturas y humedad altas sobre algunas características físicas y químicas del frijol. Arch. Latinoam. de Nutr. 2: pp 342-367.
- Moscoso, W., Bourne, M.C. and Hood, L.F. 1984. Relationships between the hard-to-cook phenomenon in red kidney beans and water absorption, puncture force, pectin, phytic acid and minerals. J. Food Sci. 49: pp 1577-1583.

- Muneta, P. 1964. The cooking time of dry beans after extended storage. Food Technol. 18(8): 130.
- Necoechea, M.H., Camacho, J.L. y Bourges, H. 1981 Efecto de la germinación sobre el valor nutritivo del maíz (Zea mays) y del frijol común (Phaseolus vulgaris). Rev. Tecnol. Aliment. 2: pp 4-12.
- Nielsen, B., Hevia, P., Erito, O. 1983. Study on the complementation of two proteins of low quality: Black beans (Ph. vulgaris) and sesame (Sesamum indicum L.). J. Food Sci. 48: 1804.
- Nielsen, S.S., Deshpande, S.S., Hermedson, M.A. and Scott, M.P. 1988. Comparative Digestibility of legume Storage Proteins. J. Agric. Food Chem. 36: pp 896-902.
- Oberleas, D. 1973. Toxicants occurring naturally in foods. National Academy of sciences, Washington, D.C.
- O'Dell, B.L. and Boland, A.R. and Koirtzoyhann, S.R. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. J. Agric. Food Chem. 20: pp 718-721.
- O'Dell, B.L. and Boland, A. 1976. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oilseed meals. J. Agric. Food Chem. 24: pp 804-808.
- Ologhobo, A.D. and Fetuga, B.L. 1984. Distribution of phosphorus and phytate in some Nigerian varieties of legumes and some effects of processing. J. Food Sci. 49: pp 199-201.
- Osborne, T.B., Mendel, L.B. y Ferry. 1919. A method of expressing numerically the growth promotion value of proteins. J. Biol. Chem. 37: 223.
- Plascencia, M.J., Borges, M.E. y Reyna, C.E. 1986. Frijol: Oferta, demanda e inversión en la investigación agrícola. Instituto Nacio-

nal de Investigaciones forestales y agropecuarias. SARH. Folleto de Investigación No. 86.

- Programa Nacional de Alimentación (PRONAL). 1983-1988
Poder Ejecutivo Federal. México 1983.
- Quast, D.G. and Da Silva, S.D. 1977b. Temperature dependence of the cooking rate of dry legumes. J. Food Sci. 44: 1299.
- Ramírez, T.A. 1986. Alternativas para el uso de frijol endurecido. Tesis profesional. Facultad de Química, UNAM. México D.F.
- Reddy, N.R., Balakrishnan, C.V. and Salunkhe, D.K. 1978. Phytate phosphorus and mineral changes during germination and cooking of black grain (*Phaseolus mungo*) seed. J. Food Sci. 43: pp 540-543.
- S.A.R.H. 1987. Dirección General de Economía Agrícola. México.
- Schurch, A.F., Loyd, L.E. y Crompton, E.W. 1950. The use of chromic oxide as an index for determining the digestibility of the diet. J. Nutr. 41: 629.
- Serriano, M. R., Thompson, L.U., Savoie, L., and Parent, G. 1985. Effect of phytic acid on the in-vitro rate of digestibility of rapessed protein and amino acids. J. Food Sci. 50: pp 1689-1692.
- Sievwright, C.A. and Shipe, W.F. 1986. Effect of storage conditions and chemical treatments on firmness, in vitro protein d digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 51: pp 982-987.
- Silva, C.A.B., Bates, R.P. and Deng, J.C. 1981. Influence of soaking and cooking upon the softening and eating quality of black beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 46: 1716.
- Skoog, 1986. Análisis Instrumental. Ed. Meva Editorial Intera-
mericana. México

- Steel, W., and Clapperton, J.L. 1982. The use of chromic oxide as a food marker- A warning. J. Sci. Food Agric. 33: 325.
- Tabekhia, M.N. and Luh, B.S. 1980. Effect of germination, cooking and canning of phosphorus and phytate retention in dry beans. J. Food Sci. 45: pp 406-408.
- Takayama, K.K., Muneta, P. and Wiese, A.C. 1965. Lipid composition of dry beans and its correlation with cooking time. J. Agric. Food Chem. 3: pp 269-271.
- Ustimenko-Bakumovski, G.V. 1982. El cultivo de plantas tropicales y subtropicales. Ed. MIR MOSCU URSS.
- Valle, P.V. 1986. Toxicología de alimentos. Organización Panamericana de la salud y Centro de Ecología Humana y Salud. Metepec, Edo. de México.
- Vandersteep, J. 1981. Effect of germination on the nutritive value of legumes. Food Technol. 35: pp 83-85.
- Varriano-Marston, E. and Jackson, G.M. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: Structural changes during storage and imbibition. J. Food Sci. 46: pp 1379-1385.
- Varriano-Marston, F. and De Omana, E. 1979. Effects of sodium salt solutions on the chemical compositions and morphology of black beans (*Ph. vulgaris*). J. Food Sci. 44: 531.
- Woot-Tsuen, W.L. 1978. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. Ed. Interamericana.
- Edwards, H.M. y Gillis, M.B. 1959. A chromic oxide balance method for determining phosphate. Poultry Sci. 38: 369.

Nota de la autora:

Las referencias bibliográficas siguientes: Burr y col., 1968; FAO, 1977; Edwards y col., 1959; Kon, 1979; Muneta, 1964; Nielsen y col., 1983; Osborne y col., 1919; Programa Nacional de Alimentación, 1983-1988; Quast y col., 1977; Schurch y col., 1950; Takayama y col., 1965; Varriano-Marston y col., 1979; fueron tomadas de otras referencias bibliográficas que también se encuentran citadas en el presente trabajo.

¿ DE GRANOS DAÑADOS, ROTOS O EXTRAÑOS

Tomar una muestra representativa de 100 granos, contar los granos dañados, rotos o extraños. y expresar el resultado como porcentaje.

¿ DE IMPUREZAS

Tomar una muestra representativa de 100 gramos, retirar las impurezas (basura, paja, piedras, tierra, insectos y cualquier otra materia extraña), pesar de nuevo los granos y por diferencia obtener el peso de la materia extraña. Expresar el resultado como porcentaje.

MEDICION DEL GRANO

Tomar una muestra representativa de 100 granos y medir con un Vernier la altura, el ancho y el grosor de cada grano. Expresar el resultado en cada uno de los casos como la media aritmética.

PESO HECTOLITRICO

Aforar una probeta de 1 lt con el grano. Pesarse el grano de la probeta y expresar el resultado como Kg/100 litros.

PESO DEL GRANO

Contar y pesar 1 000 granos y expresar el resultado como peso/1 000 granos.

DENSIDAD RELATIVA

Aforar una probeta de 100 ml con el grano, pesar el grano y colocarlo de nuevo en ella. Empleando una bureta, adicionar a la probeta con el grano un líquido que no sea absorbido por éste y en el que la semilla sea más pesada (en este caso se utilizó petróleo) para llenar los espacios vacíos.

Adicionar el petróleo hasta el aforo de la probeta y tomar la lectura de la bureta. Determinar la densidad relativa del grano

con la siguiente fórmula:

$$D = \frac{m}{v}$$

D = densidad relativa
m = peso del grano en gramos

v = aforo total de la probeta - volumen gastado de la bureta

‰ DE CÁSCARA

Tomar una muestra representativa de 25 granos, remojarlos en agua (50 ml aproximadamente) por toda la noche (16-18 horas), transcurrido este tiempo secar cuidadosamente los frijoles con una toalla de papel y separar manualmente la cáscara del cotiledón. Secar las cáscaras y los cotiledones en una estufa (60°C y vacío de 25 mm de Hg) durante 4 horas, pesar por separado las cáscaras y cotiledones (previamente ambos se enfriaron en un desecador). Calcular el porcentaje de cáscara mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de cáscara} = \frac{\text{Peso de cáscara seca}}{\text{peso de cotiledón} + \text{cáscara}} \times 100$$

Valores de referencia:

Valores menores de 8.0% = contenido de cáscara bajo
Valores de 8.0 a 10.0% = contenido de cáscara intermedio
Valores mayores de 10.0% = contenido de cáscara alto

ABSORCION DE AGUA

Tomar una muestra representativa de 25 granos (W_1) y remojar los en agua destilada (75 ml) a temperatura ambiente. A intervalos de 1 h, durante 8 h, remover la muestra de los 25 frijoles del agua de remojo, secarlos superficialmente con una toalla de papel y pesarlos inmediatamente (W_2). Calcular el porcentaje de absorción de agua mediante la siguiente fórmula :

$$\% \text{ absorción de agua} = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100$$

Nota: Corregir el peso final por sólidos perdidos.

TIEMPO DE COCCION (DETERMINADO POR EVALUACION SENSORIAL)

En un recipiente que contiene 2 litros de agua en ebullición (el volumen de agua se mantiene constante durante toda la prueba), adicionar 100g de frijol y dejar hervir (no tapar el recipiente). Cada 30 min remover los granos, sacar 100 de ellos y oprimir cada uno de ellos entre el dedo índice y el pulgar.

Conforme la ebullición continua, la textura del cotiledón cambia de una sensación granular áspera a una sensación granular suave, si los granos continúan en ebullición más del tiempo óptimo de cocción, la textura del grano continua cambiando. Cuando los granos están sobrecocidos la sensación granular suave cambia a una textura pastosa.

Reportar como tiempo de cocción cuando la textura es granular suave.

HUMEDAD

Pesar de 2 a 3 g de muestra preparada en un pesafiltro de aluminio con tapa, que ha sido previamente pesado después de secar lo 2h a $130^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Secar la muestra 1h a la estufa a $130^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ con la ventilación abierta. Retirar de la estufa, tapar, dejar enfriar en desecador y pesar tan pronto como se equilibre con la temperatura ambiente.

Calcular el porcentaje de humedad reportándola como pérdida por secado a 130°C .

$$\frac{A - B \times 100}{M}$$

M = peso de muestra
A = peso pesafiltro más muestra
B = peso pesafiltro más muestra después de secar a la estufa.

CENIZAS

Pesar con precisión 5g de la muestra en la cápsula previamente pesada después de calcinarla 2h a 600°C . Calcinar la muestra, para ello carbonizar primero con mechero y meter a la mufla cuidan

do que la temperatura no pase de 550°C para evitar que los cloruros se volatilicen. Se suspende el calentamiento cuando las cenizas estén blancas o grises (si se observan puntos negros, se humedecen con unas gotas de agua destilada, se secan en la estufa a 130°C y se vuelven a calcinar). Enfriar en desecador y pesar.

Calcular el porcentaje de cenizas:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso cap.} - \text{cenizas}) - (\text{Peso cap. vacía}) \times 100}{\text{Peso muestra}}$$

PROTEINA CRUDA (METODO KJELDAHL)

Se pesan en balanza analítica 0.5g de muestra en papel delgado blanco y con todo y papel se introduce en un matraz de Kjeldahl de 800 ml; se agregan de 6 a 8g de mezcla reactiva de selenio y 25 ml de H₂SO₄ conc. y se añaden pedazos de plato poroso para regular la ebullición en la destilación (no olvidarlos). Se coloca el matraz en posición inclinada mediante soporte y pinzas, se calienta bajo la campana con mechero, primero lentamente hasta que cesan los humos blancos. Se coloca un embudo de cola corta en la boca del matraz y se sigue calentando, aumentando la llama del mechero hasta la total destrucción de la materia orgánica. La solución debe quedar completamente clara, enfriar y diluir con 350ml de agua destilada y enfriar sobre hielo.

Añadir 40 ml de una solución concentrada de sosa (100g en 100 ml de agua) que también ha sido enfriada sobre hielo, haciendo la resbalar lentamente por la pared del matraz de manera que se estraatifiquen las dos soluciones. Conectar inmediatamente el matraz a la alargadera de Kjeldahl unida al refrigerante que a su vez está conectado a una alargadera la cual va introducida en 50ml de ácido bórico al 2%, contenidos en un matraz erlenmeyer de 500ml y adicionados de 5 gotas de una mezcla de indicadores azul y rojo de metileno. Las conecciones deben ser de hule para dar un ajuste perfecto y evitar las fugas. Una vez conectado el matraz, agitar

para mezclar las dos capas e inmediatamente colocar en la parrilla ya caliente del aparato, regular la ebullición al inicio de ésta agitando de vez en vez. Destilar aproximadamente 250 ml. Suspender la destilación, retirando primero el matraz con el destilado de manera que la alargadera quede por encima y antes de apagar la parrilla dejar destilar unos minutos con el objeto de lavar la alargadera por dentro y después lavarla por fuera recogiendo los lavados en el mismo matraz.

Titular el exceso de ácido con solución valorada de NaOH 0.1N, hasta vire violeta del indicador.

Corregir mediante una determinación en blanco de los reactivos usados empleando la misma cantidad de papel.

Calcular el porcentaje de proteína cruda:

$$\% \text{ nitrógeno} = \frac{(\text{ml problema} - \text{ml blanco}) \times N \text{ NaOH} \times 0.014 \times 100}{\text{g muestra}}$$

$$\% \text{ proteína cruda} = \% \text{ nitrógeno} \times 6.25$$

GRASA CRUDA O EXTRACTO ETereo

La muestra se pesa en un cartucho especial que se encuentra en el comercio o bien en papel filtro; se pesa primero el cartucho, después se coloca la muestra (2-5g) dentro del mismo y se vuelve a pesar. Se coloca el cartucho en el extractor tomando la precaución de colocar asbesto preparado sobre la muestra o cerrando los extremos del cartucho. Por otro lado el matraz con unas piedras porosas para regular la ebullición, se lleva a la estufa a 100°C durante 2h, se enfría y se pesa.

Se conecta el matraz al extractor y éste al refrigerante (no untar grasa en las juntas). Se agrega éter etílico por el refrigerante en cantidad de dos cargas y se calienta el matraz con parrilla eléctrica o con un foco. Generalmente son suficientes 8h para extraer toda la grasa pero puede hacerse una prueba dejando caer las últimas gotas de la descarga sobre un vidrio de reloj o sobre

un papel filtro, al evaporarse el éter no debe dejar residuo de grasa.

Se saca el cartucho con la muestra desengrasada y se guarda en un frasco, se sigue calentando hasta la casi total eliminación del éter, recuperándolo antes de que se descargue. Se quita el matraz y se calienta bajo la campana hasta la total evaporación del éter. Secar el extracto a 100°C por 30 min; enfriar y pesar.

Calcular el porcentaje de grasa cruda.

$$\% \text{ grasa cruda} = \frac{\text{Peso matraz} - \text{Peso matraz} + \text{extracto} \quad \text{vacío} \quad \times 100}{\text{Peso muestra}}$$

FIBRA CRUDA

Pesar de 2 a 5g de muestra desengrasada (se utiliza la muestra que quedó en el cartuch de la determinación de grasa cruda). Colocar la muestra en el vaso digestor, añadir 1g de asbestio preparado y 200ml de solución de H₂SO₄ al 1.25% (0.255N) hirviendo. Calentar de inmediato (debe empezar a hervir antes de 1 min), refluja durante 30 min, rotando el vaso de vez en cuando para incorporar las partículas que se pegan en la pared del vaso. Filtrar a través de papel seda especial, usando vacío y lavar con agua destilada caliente hasta que no de reacción ácida al rojo de metilo. El residuo que quedó en el filtro se pasa por medio de una espátula al vaso digestor ya limpio y se repite la operación con solución hirviendo de sosa al 1.25% (0.313 N). Después de refluja los 30 min; se filtra sobre el mismo papel seda, se lava con 25ml de H₂SO₄ al 1.25% hirviendo y con tres porciones de 50ml de agua destilada caliente, comprobar que el filtrado no de reacción alcalina.

Pasar cuantitativamente el residuo a un vaso de precipitados lavando con agua, y se filtra sobre un crisol gooch que lleva una delgada capa de asbesto y que ha sido calcinado durante 1h a 600°C se lleva a la estufa a 130° ± 2°C durante 2h, enfriar y pesar. Llevar a la mufla y calcinar a 600° ± 15°C durante 30 min, enfriar y

pesar.

Determinar un blanco tratando 1g de asbesto preparado con ácido y álcali en la misma forma que se procedió para la muestra.

Preparación del asbesto: Una delgada capa de asbesto se coloca en una cápsula y se lleva a la mufla a 600°C durante 16h. Se hierve con solución de H₂SO₄ al 1.25% durante 30 min; se filtra, se lava perfectamente con agua y se hierve con solución de NaOH al 1.25% durante 30 min; se filtra, se lava una vez con sol. de H₂SO₄ al 1.25%, se lava perfectamente con agua, se seca y se calcina 2h a 600°C.

Calcular el porcentaje de fibra cruda:

$$\% \text{ fibra cruda} = \frac{A - B \times 100}{m}$$

A = Peso gooch después de 2h a 130°C menos el peso del gooch después de calcinar 30 min a 600°C

B = Peso perdido en la determinación del blanco

m = Peso de muestra original (corregir el peso de la muestra desengrasada de acuerdo al % de grasa cruda encontrada)

CARBOHIDRATOS ASIMILABLES

Sumar los porcentajes de humedad, cenizas, proteína cruda, grasa cruda y fibra cruda; el total se resta de 100, se supone que la diferencia son los carbohidratos asimilables (NIFEXT según la terminología sajona).

DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" DE LA PROTEINA

En un vaso de precipitados de 600ml colocar 1g de la muestra problema y digerirla de la siguiente manera; añadirle 430ml de agua, 0.5g de pepsina y 16ml de HCl al 10%; agitar perfectamente y colocar el vaso en una estufa a 38-40°C durante 16h, agitando de vez en cuando. Transcurrido este tiempo añadirle 11ml de HCl al 10%, agitar y dejar a la misma temperatura durante 8h más, pasadas las cuales se añaden otros 11 ml de HCl al 10%, agitar y dejar nuevamente en la estufa durante 16h; transcurridas éstas añadir 11 ml de HCl al 10%, agitar y dejar por último durante 8h a 38-40°C. Pa-

sadas las últimas 8h, dejar enfriar el vaso y su contenido; filtrar, lavar con agua caliente el vaso y el residuo en el filtro.

Determinar las proteínas del residuo y las proteínas totales de la muestra problema por macrokjeldahl:

$$\% \text{ digestibilidad "in vitro"} = \frac{\% \text{ Proteínas totales} - \% \text{ Proteínas no digeridas}}{\% \text{ proteínas totales}} \times 100$$

PAN DE CROMO

Se mezclan 30.0g de Cr_2O_3 con 70.0g de almidón y 40 ml de agua destilada. La masa se extiende sobre una hoja de papel aluminio y se seca a 90°C durante 8h. El pan de cromo ya seco se muele y se tamiza (malla 40).

La concentración de pan de cromo en las dietas es del 1%.

DIGESTIBILIDAD APARENTE (D.A.)

Mezcla digestora.- Disolver 2.0g de molibdato de sodio en 30ml de agua, añadir lentamente 30ml de H_2SO_4 conc. con enfriamiento constante en un baño de hielo, cuando se haya enfriado añadir 40ml de HClO_4 (ácido perclórico) al 70%. Almacenar la solución en un frasco ámbar no más de 2 semanas.

Pesar 15mg de Cr_2O_3 para la solución estándar; 150mg de heces de las dietas en estudio; 100mg de las heces de las dietas de caseína y 1.0g de las dietas. Colocar las muestras en matraces microkjeldahl (por cada muestra hacer un duplicado), agregar 2.0ml de HNO_3 conc. (solamente en dietas agregar 3.0ml). Digerir hasta que se hayan eliminado todos los gases de nitrógeno; hasta sequedad total. Enfriar y agregar para heces y dietas 3 y 5 ml de la mezcla digestora respectivamente. Poner el digestor a mediana temperatura y esperar a que el color verde del óxido crómico pase a color naranja (dicromato). Esperar 20 min de ebullición, enfriar y aforar a 100ml con H_2SO_4 1.1M únicamente para la solución estándar, para las muestras de heces y dietas aforar a 25ml con H_2SO_4

1.1M . Leer a 440 nm contra un blanco de agua destilada.
 Determinar el % Cr_2O_3 mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Cr}_2\text{O}_3 = \frac{\text{Abs. muestra}}{\text{Abs. estándar}} \times \frac{15\text{mg } \text{Cr}_2\text{O}_3}{100 \text{ ml}} \times \frac{25\text{ml}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

Posteriormente con estos datos, % Cr_2O_3 y % Nitrógeno en dietas y heces, se calcula el % de Digestibilidad Aparente de cada dieta con la ecuación de Ewars y Gillis (1959).

$$\% \text{D.A.} = 100 - \left(100 \times \frac{\% \text{N en heces}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en heces}} \times \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ dieta}}{\% \text{N en dieta}} \right)$$

CUADRO No. 13 Composición de la mezcla vitamínica
(Teklad Test Diet, Madison, WI)

Vitaminas	Cantidad	
Ac. para-amino benzoico	110.229	mg/Kg de dieta
Ac. ascórbico	1017.520	"
Biotina	0.441	"
Pantotenato de calcio	66.137	"
Vit. B ₁₂ (0.1% en manitol)	29.762	"
Citrato de colina	3715.123	"
Ac. Fólice	1.984	"
l-inesitol	110.229	"
Menadiona	49.603	"
Ac. nicotínico	99.206	"
Clorhidrato de piridoxina	22.045	"
Riboflavina	22.045	"
Clorhidrato de tiamina	22.045	"
Vit. A seca (500,000.u/g)	1984.1	U.I.
Vit. D seca (500,000 u/g)	220.4	"
Acetato de Vit. E.	12.12	"

CUADRO No. 14 Mezcla de minerales Rogers-Harper (1965).

Minerales	g/100g de la mezcla	g/Kg de la dieta
CaCO ₃	29.29	11.716
CaHPO ₄ ·2H ₂ O	0.43	0.172
KH ₂ PO ₄	34.31	13.742
NaCl	25.06	10.024
MgSO ₄ ·7H ₂ O	9.98	3.992
Fe(C ₆ H ₅ O ₇)·6H ₂ O	0.623	0.249
CuSO ₄	0.156	0.062
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.121	0.048
ZnCl ₂	0.020	0.008
KI	0.0005	0.0002
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.0025	0.001
Na ₂ SeO ₃ ·5H ₂ O	0.0015	0.0006

La mezcla de sales cuando se adiciona a un 4% en peso de la dieta proporciona estas cantidades.