



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA**

"PARTICIPACION DEL ACIDO FITICO, PECTINAS Y  
PROTEINAS EN LA VELOCIDAD DE COCCION  
DEL GRANO DE FRIJOL"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O  
P R E S E N T A  
ALICIA CASTILLO MARTINEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

- Varriano-Martson E. y Omana. 1979. Effects of sodium salt solution on the chemical composition and morphology of black beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 44 : 531-537.

La vida. La vida es lo que pasa ,  
bañando los objetos. mientras te  
ocupas de averiguar a donde  
navegar contigo.

Este trabajo va dedicado a mis padres Josefina y Alvaro por su ejemplo y apoyo indispensables en todo momento así como por su paciencia para con mi persona. Y a mis hermanos Rodolfo, Artemio, Lilia e Idalia por el cariño, alegría y ayuda que siempre me han brindado.

## AGRADECIMIENTOS.

De manera muy especial agradezco a la Dra. Irma Bernal su invaluable apoyo y dirección a lo largo de todo el trabajo así como su ejemplo y buena voluntad hacia el esfuerzo por la superación.

Al departamento de Bioquímica Vegetal de la Facultad de Química y a cada uno de sus integrantes todas las facilidades prestadas para realizar el presente trabajo.

Al Dr. Ernesto Moreno y al M. en C. Jorge Ramírez del Instituto de Biología de la UNAM por haber proporcionado el material biológico.

A todos mis amigos , entre ellos varios de mis mejores maestros , por todo el tipo de apoyo que me brindaron y sobre todo por su cariño y compañía.

El presente trabajo forma parte del proyecto de  
CONACyT bajo el convenio PVT - AI - NAL -  
853076.

## ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
METODOLOGIA	10
REACTIVOS	10
EQUIPO	10
MATERIAL BIOLÓGICO	10
CONDICIONES DE DETERIORO	11
CONDICIONES DE COCCION	11
DETERMINACION DE TEXTURA	11
EXTRACCION DE ACIDO FITICO	11
DETERMINACION DE ACIDO FITICO	12
DETERMINACION DE PROTEINAS SOLUBILIZADAS	12
EXTRACCION DE PECTINAS	13
DETERMINACION DE PECTINAS	15
RESULTADOS	16
DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE COCCION	17
DETERMINACION DE LOS NIVELES DE ACIDO FITICO	21
PARTICIPACION DEL ACIDO FITICO EN LA COCCION	24
PARTICIPACION DE LAS PROTEINAS EN LA COCCION	28
CONTENIDO Y DISTRIBUCION DE LAS PECTINAS	30
DICUSION	36

CONCLUSIONES	41
APENDICE I	42
APENDICE II	43
APENDICE III	44
REFERENCIAS	45

## RESUMEN

La suavización térmica del frijol se debe a que durante la cocción del grano su lamela media se fractura y solubiliza.

Se han propuesto cuando menos dos mecanismos, los cuales no son excluyentes. Uno propone que dicho proceso podría efectuarse por la pérdida de los iones calcio y magnesio presentes en el polímero de ácido galactourónico, principal componente de la lamela media, por efecto de algún quelante que podría ser el ácido fítico, una acción semejante podría ser realizada por las proteínas citoplasmáticas, esta posibilidad no ha sido estudiada, y un segundo mecanismo que considera que las pectinas son susceptibles a despolimerizarse por efecto de la temperatura y que debido al calor aplicado durante la cocción estas pierden estructura y permiten la relajación de la malla de pectina que da estructura al grano.

En este trabajo se estudió si en la suavización del grano el ácido fítico actúa como quelante y si la velocidad de cocción de diferentes lotes de frijol estaba relacionada con la termosensibilidad de sus pectinas y/o proteínas solubilizadas durante la cocción.

Para evaluar la participación del ácido fítico como quelante se cuantificó la formación del complejo ácido fítico-ion tanto en caldo de cocción como en el grano, en ningún caso se encontró la presencia de tal complejo, esto sugiere que el ácido fítico no está actuando como quelante en el proceso de cocción.

Los niveles de proteína solubilizada en el agua de cocción no correlacionaron con las velocidades de cocción de los lotes aquí estudiados.

La termosensibilidad de las pectinas presentes en los diversos lotes de frijol se determinó cuantificando el contenido de pectinas solubilizadas cuando el frijol se ha suavizado en un 50 % (t<sub>50</sub>). Se encontró que hay una correlación inversa entre el porcentaje de pectinas del cotiledón solubilizadas al t<sub>50</sub> y la velocidad de cocción. Estos resultados fueron interpretados en el sentido de que a mayor contenido de pectinas solubles en agua caliente, presumiblemente pectinas metiladas y ácidos pécticos, presentes en la lamela media, mayor será su termosensibilidad.

## INTRODUCCION

El frijol es una de las principales fuentes de proteína en la mayoría de los países de América Latina, aportando del 20 al 50 % del total que consume la población (Varriano y Omana 1979).

El proceso de preparación del frijol para su consumo consiste en un período de remojo seguido de la ebullición del grano hasta adquirir una textura y sabor adecuados (Quast y Da Silva 1977). El tiempo de cocción depende de la variedad y el lote de frijol de que se trate (Moreno y Ramírez 1986, Quiroz 1990).

Durante el remojo y la cocción se llevan a cabo varios cambios estructurales y químicos en el grano de frijol. En la primer fase de preparación del frijol, la cual corresponde al remojo del grano a temperatura ambiente, se lleva a cabo la hidratación de los gránulos de almidón con el consecuente aumento en su volumen, iniciándose su gelatinización (Sefa-Dedeh y Stanley 1979). La toma de agua por los polisacáridos del cotiledón reduce la adhesión intercelular, lo que resulta en una disminución de la firmeza del grano (Rao y Lund 1986).

En la segunda parte de la cocción del frijol (tratamiento térmico), el calor aplicado induce en el grano los cambios estructurales que conducen a la suavización de la testa y el cotiledón (Stanley y Aguilera 1985). Entre estos cambios se pueden mencionar la gelatinización total de los gránulos de almidón (Hang et al. 1977), que se realiza paulatinamente a medida que se incrementa la temperatura (Rocklannd et al. 1977); la destrucción

de antimetabolitos, como el inhibidor de la tripsina y las lectinas; la remoción parcial de los polifenoles lo que incrementa la disponibilidad de las proteínas; y la fractura y solubilización de la lamela media (Bressani et al. 1983, Sefa-Dedeh y Stanley 1979).

La lamela media representa el material cementante que mantiene unidas las células del cotiledón y de la testa, por lo que se considera ampliamente relacionada con la firmeza del grano (Van Buren 1986). Estructuralmente la lamela media es una extensión de la matriz de la pared celular, formada por sustancias pécticas, hemicelulosa, compuestos de bajo peso molecular y iones (Rao y Lund 1986).

Existen tres tipos principales de sustancias pécticas: las propectinas, polímeros de alto peso molecular insolubles en agua (Robertson 1979); los ácidos pectínicos o pectinas altamente metiladas, solubles en agua (McFeeters y Armstrong 1984); y por último los ácidos pécticos o pectinas poco metiladas (pectatos), que pueden interaccionar con iones, y cuya solubilidad depende de la cantidad de cationes a ellos asociados (Haruyoshi et al. , Hudson y Buescher 1986).

Los polímeros de la lamela media se encuentran unidos por enlaces  $\alpha$  1,4 D-galactourónico, con algunas uniones  $\alpha$  1,2 L-ramnosa a partir de la cadena principal, además de presentar fragmentos de galactosa y arabinosa (Gonda et al. 1988).

El modelo de cocción más aceptado en la actualidad propone, en base a los estudios de microscopía (Hanh et al. 1977, Rockland et al. 1977), que para que el frijol u otras leguminosas se suavicen,

se debe llevar a cabo la fractura y solubilización de la lamela media, lo cual permitiría la separación de la células del cotiledón y por ende la pérdida de rigidez del grano.

El modelo anterior no explica la forma y/o los factores que permiten la fractura lamelar y solubilización de sus pectinas. Se ha propuesto que dicha solubilización se lleva a cabo por la acción de quelantes citoplasmáticos (Kon y Sanshuck 1981, Moscoso et al. 1984), y/o por un recambio de los iones divalentes por monovalentes (Van Buren 1986), y/o por la termosensibilidad que presenten las pectinas (Loh et al. 1982).

El mecanismo basado en los quelantes citoplasmáticos propone al ácido fítico (AF) como principal responsable de la solubilización de las pectinas.

El ácido fítico (AF, hexametáfosfato de mioinositol), es la principal reserva de fósforo en muchos granos y semillas (Chang 1977, Kon y Sanshuck 1981, Khokhar y Chauhan 1986). En el frijol representa el 70 % del fósforo total, y se encuentra en forma soluble casi en su totalidad (Lolas y Markakis 1977, Chang et al. 1979).

Los grupos fosfato del AF le confieren carga negativa, lo que favorece su interacción con minerales como el zinc y el hierro, así como con los iones calcio y magnesio (Lolas y Markakis 1977) que se encuentran formando parte de los pectatos insolubles de la lamela media, siendo éstos pectatos los que le confieren parte de su rigidez e insolubilidad. Así al actuar el AF como un agente quelante durante la cocción, removiendo los iones divalentes de las pectinas, puede provocar un cambio en las características de

solubilidad de ellas, permitiendo que la estructura de la lamela media sea ahora más laxa y que el grano se suavice (Moscoso et al. 1984). Se supone que cuando el AF lleva a cabo su acción quelante sobre los ya mencionados cationes de la lamela media, da lugar a fitato de calcio o de magnesio, el cual sería insoluble (Cheryan 1980), y al mismo tiempo se formarían pectatos de sodio y potasio solubles (Moscoso et al. 1984).

Las observaciones de que los niveles de AF disminuyen durante períodos prolongados de almacenamiento de los granos bajo condiciones adversas (humedad relativa alta y temperatura elevada) y de que éstos requieran de un mayor tiempo de cocción para su ablandamiento, han llevado a concluir que existe una relación inversa entre el nivel de AF y el tiempo de cocción del frijol (Jones y Boulter 1983, Moscoso et al. 1984).

En base a lo anteriormente expuesto, se ha sugerido que el contenido de AF en el grano puede utilizarse como un índice de la capacidad de ablandamiento del grano, asumiendo que a mayor contenido de AF la velocidad de cocción será más rápida (Kon y Sanshuck 1981, Moscoso et al. 1984).

Con el fin de encontrar evidencia más directa sobre el papel de éste quelante natural en la pérdida de rigidez de los granos de frijol, otros autores realizaron trabajos en los cuales se remojaban frijoles en soluciones de quelantes como el EDTA o el mismo AF; los resultados de dichos experimentos mostraron que el tiempo de cocción de los frijoles tratados así disminuía en comparación con el tiempo de los granos que solo se habían remojado en agua, demostrando que los quelantes podían contribuir

a que el proceso de cocción se llevara a cabo de manera más eficiente (Kon y Sanshuck 1981).

No obstante en otros estudios se ha encontrado que no hay una correlación directa entre el contenido de AF y el tiempo de cocción de varias legumbres (Kon y Sanshuck 1981).

Otra de las moléculas que podrían actuar como quelantes celulares, pero cuya participación en el proceso de cocción no ha sido explorada, son las proteínas, éstas moléculas presentan carga negativa por lo que podrían actuar en forma similar al AF.

A pesar de todas las evidencias obtenidas en forma indirecta sobre el posible papel que desempeña el AF en el proceso de cocción, no se ha determinado en forma directa si contribuye o no al proceso. Una forma de estudiar esto sería a través de determinar la formación del complejo AF-ion divalente durante el proceso de cocción.

En lo que respecta al mecanismo que considera que para que se solubilizan las pectinas de la lamela media se requiere el recambio de iones divalentes (calcio y magnesio) de los pectatos por iones monovalentes (sodio y potasio) se han realizado estudios en los cuales se remojan frijoles en soluciones salinas, teniendo como principal componente al sodio, demostrándose que este tratamiento disminuye el tiempo de cocción de los frijoles lo cual apoyaría la teoría anterior.

Una vez abordadas las dos propuestas anteriores se menciona ahora la que considera que la estructuración y composición de las sustancias pécticas de la lamela media, determinan las características de ablandamiento, fracturabilidad y resistencia

que el grano de frijol presente durante la cocción.

Este modelo sugiere que el ablandamiento efectuado durante la cocción del frijol se debe a la despolimerización de las pectinas (solubilización por acción del calor más que por el intercambio o desplazamiento de los iones de la lamela media), induciendo el fracturamiento del polímero de ácido galactourónico (Loh y Breene 1982).

Si esto último fuera aplicable al grano de frijol tendríamos que, dependiendo del grado de termosensibilidad que presentaran sus pectinas, lo cual estaría dado por el arreglo que hubiera entre ellas y los demás componentes de la pared celular, sería la facilidad que dicho grano tuviera para suavizarse, reflejándose esto en el tiempo de cocción que los frijoles requirieran para llegar a ser comestibles.

La propuesta anterior se apoya en el hecho de que frijoles que presentan una menor velocidad de cocción que sus respectivos controles, también presentan una separación deficiente de sus células (Jones y Boulter 1983) y en las características de solubilidad de las pectinas las cuales varían de acuerdo con su composición (Fuchigami 1977).

Lo antes propuesto sugiere que el proceso de cocción requiere de un quelante, función que se ha propuesto realiza el AF, formando un complejo AF-metal que teóricamente podría ser detectado a lo largo del proceso de cocción. El AF se encuentra localizado en los cuerpos proteicos del citoplasma, mientras que los iones con los cuales debe interactuar (calcio y magnesio) se encuentran en un compartimiento celular diferente: la lamela media, por lo que el establecimiento de dicha interacción requiere

que durante la cocción el calcio y el magnesio difundan hacia el interior del citoplasma o bien que el AF difunda hacia el exterior del grano y en su paso por la lamela media interaccione con dichos iones. En este trabajo se estudió esta última posibilidad así como la formación del complejo AF-metal. Por otro lado también se estudió la contribución de las pectinas y las proteínas citoplasmáticas a la velocidad de cocción del grano de frijol.

## OBJETIVOS

Para poder realizar el trabajo antes propuesto se plantearon los siguientes objetivos.

### Objetivo General:

El objetivo general de éste trabajo fué determinar si en la fractura y solubilización de la lamela media que se observa en la cocción del grano de frijol, era a través de remover por quelación los iones calcio y magnesio de las pectinas y/o la termosensibilización de las pectinas de las mismas.

Los objetivos particulares planteados se describen a continuación:

A. Cuantificar el contenido total de ácido fítico en granos de cuatro lotes de frijol con velocidades de cocción diferentes, así como la cantidad solubilizada durante la cocción.

B. Obtener la cantidad solubilizada de proteína durante la cocción de estos frijoles.

C. Determinar la cantidad total de pectinas en la testa y en el cotiledón de los frijoles, así como las características de solubilidad de éstas, en los mismos cuatro lotes.

## METODOLOGIA

### REACTIVOS

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron reactivos de grado analítico.

### EQUIPO.

Enseguida se enlistan el modelo y la marca del equipo utilizado para el desarrollo del presente trabajo.

Centrífuga refrigerada MSE LR-6, Centrífuga Beckman J2-21, rotor JA 20, Balanza analítica E. Mettler H6, Balanza analítica Sartorius Handy H51, Medidor de dureza Schleuninger Mod.2E/106, Espectrofotómetro Sequoia-Turner 340, Multi-block heater Lab-Line No. 2090, Parrilla térmica Corning PC-351.

### MATERIAL BIOLÓGICO

Para llevar a cabo el presente trabajo se utilizó frijol *Phaseolus vulgaris* de las variedades Michigan 800 y Ojo de cabra, cosecha 1988 que se obtuvo del laboratorio de Fitopatología del Instituto de Biología de la UNAM. Los granos se almacenaron a 4°C en frascos cerrados hasta su utilización. Antes de utilizar los granos se verificaba en forma visual que no presentaran daño aparente.

#### CONDICIONES DE DETERIORO

El deterioro del grano se realizó de acuerdo con lo reportado por Díaz de León (1989). El grano se almacenó a 75 % de humedad relativa y a 42°C por 60 días.

#### CONDICIONES DE COCCION

Lotes de 1 g de frijol remojados por 18 horas a temperatura ambiente fueron adicionados a matraces erlenmeyer que contenían 17 ml de agua hirviendo (92°C). La cocción se realizó por diferentes períodos de tiempo hasta 120 min. Durante todo éste tiempo el volumen de agua se mantuvo constante por la adición de agua hirviendo.

Una vez transcurrido el tiempo de cocción correspondiente a cada muestra los frijoles se retiraban del agua y se les secó el agua excedente, para después determinarles su dureza.

#### DETERMINACION DE LA DUREZA.

La dureza de los granos de frijol antes y durante la cocción fué determinada en un medidor de dureza Schleuninger. La dureza se asoció con la fuerza necesaria para romper o comprimir los frijoles y fué expresada en Kg/grano de frijol. Para cada determinación se utilizaron 40 granos de frijol y se reportó el promedio con el error estandar.

#### EXTRACCION DEL ACIDO FITICO.

Un gramo de frijol se coció por el tiempo deseado, se separó la testa de los cotiledones y éstos últimos se homogenizaron en un

mortero con 20 ml de agua ó en 20 ml de TCA al 3 %.El homogenizado se centrifugó a 4°C por 30 min a 18500 g .En el sobrenadante resultante se cuantificó el AF.

Para la determinación de AF en el caldo de cocción a éste se le adicionó la décima parte (v/v) de TCA al 30 %, se agitó por 30 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 4°C durante 30 min a 18500 g ,en el sobrenadante se cuantificó el AF.

#### DETERMINACION DEL ACIDO FITICO.

El AF se cuantificó de acuerdo con el método de Haug y Lantzsch (1983).A un ml de solución férrica (apéndice I) se le adicionó 0.5 ml de la muestra,se hirvió por 30 min, se incubó a temperatura ambiente por 15 min y se centrifugó a 4°C por 15 min a 2000 g.Un ml del sobrenadante se transfirió a un tubo de ensaye (12 x 130 mm ) y se le adicionó 1.5 ml de una solución de biperidina (apéndice I), se leyó a los 30 seg de adicionada la solución de biperidina, previa agitación.

La lectura se hizo contra un blanco de agua a 519 nm.

La curva patrón se realizó dentro del rango de 0.015 mg/ml a 0.2 mg/ml de ácido fítico.

#### DETERMINACION DE LAS PROTEINAS SOLUBILIZADAS DURANTE LA COCCION.

Durante la cocción se tomaron alícuotas del caldo de cocción a diferentes intervalos de tiempo.La determinación de las proteínas se realizó de acuerdo con el método de Lowry modificado por Peterson (1977) el cual se describe brevemente a continuación.

En un tubo de ensaye (12 x 130 mm ) se colocaron de 50 a 150

$\mu\text{l}$  de muestra, 0.1  $\mu\text{l}$  de desoxicolato de sodio al 0.15 % y la cantidad necesaria de agua para un volumen final de 1.0 ml. Esta mezcla se incubó por 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregó 0.1 ml de TCA al 50 % se agitó y se mantuvo en baño de hielo por 5 min. La mezcla se centrifugó a 2000 g. y el sobrenadante se descartó, la pastilla se resuspendió en 1.0 ml de agua y se le adicionó 1.0 ml del reactivo A (apéndice II). Se incubó por 10 min a temperatura ambiente y se le añadió 0.5 ml del reactivo B (apéndice II), se agitó y se reincubó por 30 min a temperatura ambiente, después de los cuales se leyó a 750 nm contra un blanco de reactivos.

La curva patrón se realizó utilizando albúmina de bovino y dentro de un rango de 10 a 60  $\mu\text{g/ml}$  de proteína.

#### EXTRACCION DE PECTINAS.

La extracción de las pectinas se realizó homogenizando 0.30 g de cotiledón y 0.10 g de testa en 4.0 y 1.0 ml de hexametáfosfato de sodio respectivamente. El homogenizado se incubó a reflujo por 24 horas a 92°C. Después de dicho período de extracción, se realizó una centrifugación a 4°C a 18500 g por 15 min. La determinación se realizó en una alícuota del sobrenadante.

Para caracterizar el tipo de pectinas presentes en el grano éstas se extrajeron con diversos solventes de acuerdo con el diagrama 1.

## EXTRACCION DE PECTINAS

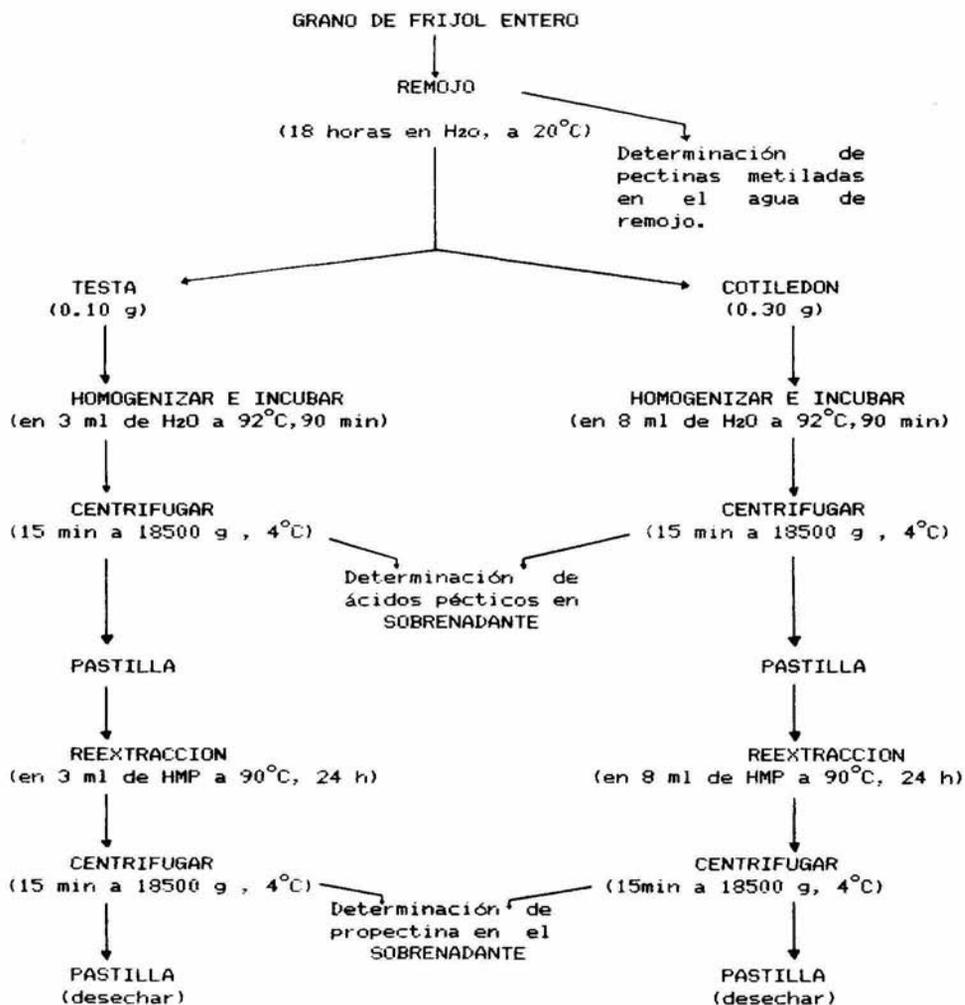


DIAGRAMA 1. Metodología para la extracción de diferentes tipos de pectinas en el frijol

#### OBTENCION DE LAS PECTINAS SOLUBLES EN EL CALDO DE COCCION.

A partir del caldo de cocción se tomó una alícuota de éste a distintos períodos de tiempo y en esta muestra se realizó la determinación de las pectinas.

#### DETERMINACION DE PECTINAS.

La determinación de pectinas se realizó de acuerdo con el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973); en el cual, a 2.4 ml de  $H_2SO_4$ /tetraborato (Apendice III) se le agregaron 40  $\mu l$  de muestra o la que fuera necesaria completando siempre un volumen final de 2.80 ml con agua bidestilada. Posteriormente se agitó e inmediatamente se colocó en un baño de agua hielo. Cuando se hubo enfriado se colocó en agua hirviendo por exactamente 5 min después de los cuales se enfrió nuevamente. Cada tubo problema tuvo su duplicado y su propio blanco, de tal manera que a los dos primeros se les agregó 40  $\mu l$  de una solución de orto-hidroxidifenil (Apendice III), mientras que al tercer tubo el cual correspondió al blanco se le agregaron 40  $\mu l$  de una solución de hidroxido de sodio al 0.5 %, los tubos se agitaron y después de 20 min se registraba su absorbancia a 520 nm.

La curva patrón se realizó con un stock de ácido galactourónico y dentro de un rango de 0.03 a 0.24 mg/ml.

Los estadísticos utilizados fueron: prueba de t de student para el caso de dos muestras independientes y análisis de ANOVA para comparar entre más de dos conjuntos de datos con tratamientos diferentes (Cochran 1987).

## RESULTADOS

Para estudiar si la solubilización y fractura de la lamela media durante la cocción del grano de frijol se realiza a través de la remoción de iones divalentes por ácido fítico (AF), y/o proteínas o a través de una termodespolimerización de las pectinas se requiere de lotes de frijol que presenten diferentes tiempos de cocción de diversas variedades.

Esto permite el poder correlacionar la velocidad de cocción de los diferentes lotes con la magnitud de la variable estudiada, por ejemplo si la velocidad de cocción depende de la cantidad de pectinas presentes en la lamela media entonces deberá encontrarse una relación entre el tiempo de cocción de cada lote y el contenido de pectinas en el grano y ésto deberá mantenerse y ser válido para lotes de diferente variedad.

Por antecedentes del laboratorio se sabía que la variedad Ojo de cabra presentaba un tiempo de cocción mayor (120 min.) que la variedad Michigan (60 min), y que las dos variedades incrementaban sus tiempos de cocción después de un período de almacenamiento bajo condiciones adversas (Díaz de León 1989). Por lo que en este trabajo se utilizó granos de frijol variedad Michigan y Ojo de cabra almacenados a 4°C y se tomaron como granos control. Granos de éstas mismas variedades se almacenaron a 42°C y 75 % de humedad relativa por 60 días y se les denominó deteriorados o endurecidos.

Determinación de la velocidad de cocción del frijol control y deteriorado.

Las gráficas que describen el comportamiento de la textura del grano de frijol en función del tiempo de cocción se muestra en las figuras 1 y 2 .Dicho comportamiento puede ser descrito por una función semilogaritmica silmilar a la reportada por Sefa-Dedeh y colaboradores (1978).

La constante de velocidad del proceso de cocción para cada lote se calculó linealizando dichas gráficas de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$T = be^{mt}$$

donde :

T ,es el % de la textura inicial

b ,ordenada al origen

m ,pendiente de la curva (constante de velocidad de cocción)

t ,tiempo dado de cocción

e ,Ln<sup>-1</sup>

Al graficar el logaritmo natural de la textura contra el tiempo de cocción se obtuvo una recta, la pendiente de tal curva representó la constante de velocidad (Tabla 1). Esta constante se utilizó para calcular el tiempo de cocción que cada lote de frijol requirió para alcanzar el 50 % de su textura inicial, (t<sub>50</sub>) , dicho valor se tomó como medida indirecta de la velocidad de cocción de los frijoles (tabla 1). Estos cuatro lotes que presentaron cuatro diferentes velocidades de cocción fueron utilizados en el desarrollo de este trabajo. Los lotes de frijol generados por almacenamiento se les llamó deteriorados o almacenados.

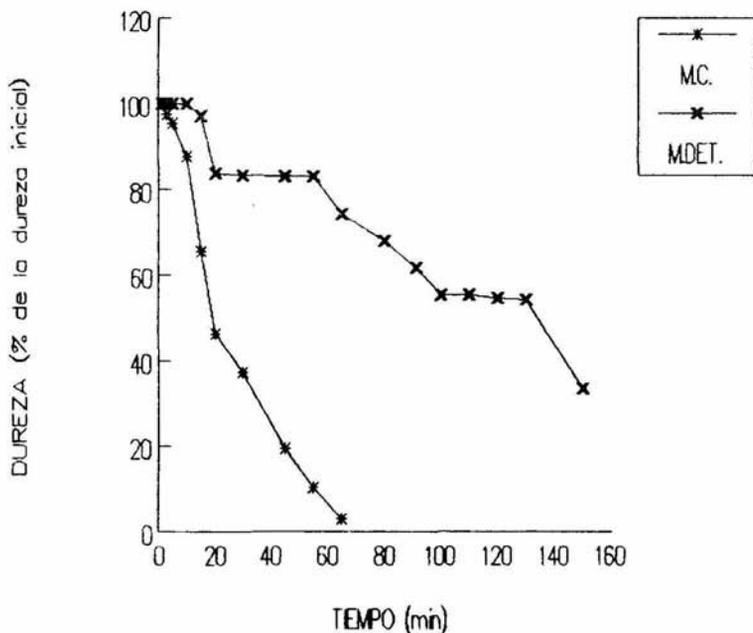


FIGURA 1. Efecto de la cocción sobre la dureza del grano de la variedad Michigan, control ( \* ) almacenados a 4°C y deteriorados ( x ) almacenados a 42°C y 75 % de humedad relativa por 60 días. Para la cocción se remojaron lotes de un gramo de frijol por 18 horas a temperatura ambiente, los cuales posteriormente se adicionaron a matraces erlenmeyer que contenían 17 ml de agua hirviendo. Una vez concluido el tiempo de cocción indicado los frijoles se retiraron del agua y se les determinó la dureza con un aparato que registraba los Kg necesarios para romper un frijol. Se utilizaron 40 frijoles para cada tiempo de cocción.

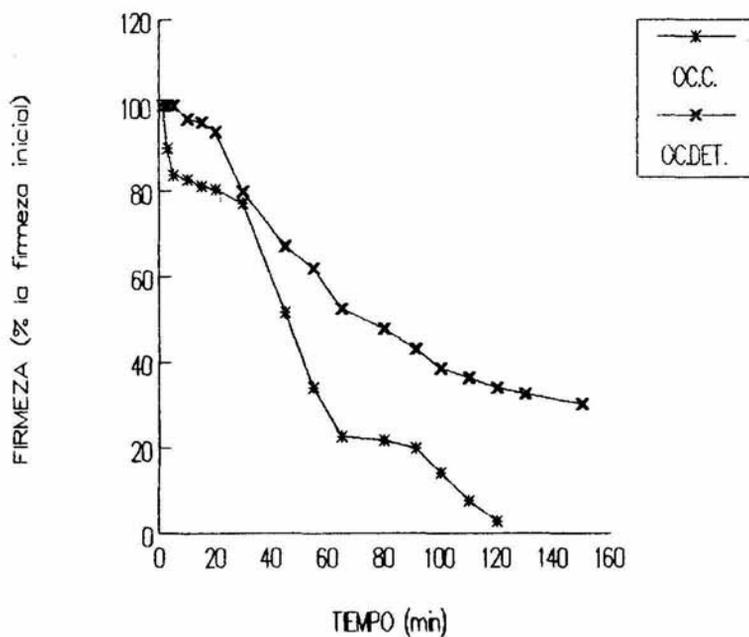


FIGURA 2. Efecto de la cocción sobre la dureza del grano de la variedad Ojo de cabra, control ( \* ) almacenado a 4°C y deteriorado ( x ) almacenado a 42°C con un 75% de humedad relativa por 60 días. Para la cocción y la determinación de la dureza se siguieron los pasos especificados en la figura 1.

TABLA 1. VALORES DE LAS CONSTANTES DE VELOCIDAD DE COCCION Y LOS  $T_{50}$  PARA FRIJOLES CONTROL Y DETERIORADOS DE AMBAS VARIEDADES.

VARIEDAD	CONTROL		DETERIORADO	
	$K^a$	$T_{50}^b$	$K^a$	$T_{50}^b$
MICHIGAN	0.049	20 min	0.006	120 min
OJO DE C.	0.024	40 min	0.009	80 min

<sup>a</sup>La constante de velocidad se obtuvo calculando la pendiente de la gráfica de Ln del porciento de dureza contra el tiempo de cocción.

<sup>b</sup>El  $t_{50}$  representa el tiempo al cual el frijol alcanza el 50 % de su dureza original y se calculó a partir de la ecuación semilogaritmica resultante con los datos graficados para obtener la constante de velocidad.

#### Determinación de los niveles de Acido Fítico.

Los niveles de AF (tabla 2) de los granos control fueron mayores en la variedad Ojo de cabra que en la Michigan, éstas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $\alpha$  0.01,  $t_{\text{observado}}= 7.83$ ,  $t_{\text{tablas}}=2.51$ ).

Los granos almacenados de la variedad Ojo de cabra presenta un menor contenido de AF que sus controles, mientras que los granos almacenados de la variedad Michigan los niveles de éste compuesto fueron solo ligeramente menores a los granos control (tabla 3). Este resultado sugiere que la susceptibilidad del AF a ser hidrolizado durante el almacenamiento es variedad dependiente.

Lo anterior, aunado a los resultados de la tabla 1, sugieren que el tiempo de cocción del grano de frijol de una variedad dada no está en función del contenido de AF. Los resultados antes mencionados y la interpretación de ellos es contraria a la mayoría de los resultados descritos en la literatura (Kon y Sanshuck 1981, Moscoso et al 1984). Para determinar cual de las anteriores propuestas era la correcta se procedió a comprobar en forma directa la participación del AF en el proceso.

TABLA 2. CONTENIDO DE ACIDO FITICO EN FRIJOL DE LAS VARIEDADES MICHIGAN Y OJO DE CABRA, CONTROL Y DETERIORADOS.

VARIEDAD	CONTROL	DETERIORADO
	ACIDO FITICO	mg/FRIJOL *
MICHIGAN	2.23±0.15 <sup>a</sup>	1.88±0.25 <sup>c</sup>
OJO DE CABRA	3.64±0.20 <sup>b</sup>	2.57±0.23 <sup>d</sup>

\* La extracción de AF se realizó en el cotiledón de los frijoles sin ningún tratamiento previo, tomando 1 g y homogenizando en 20 ml de TCA y a partir de éste se hizo la determinación según el método de Haug-Lanzsch (1983).

Se reporta el contenido de AF (mg/frijol) ± su desviación estandar; n=6.

Entre a y b, como entre b y d se encontraron diferencias significativas (P<0.01) y entre a y c no hay diferencias significativas (P<0.01).

TABLA 3. EFECTO DEL TIEMPO DE COCCION EN LOS CONTENIDOS DE ACIDO FITICO EN LAS VARIEDADES MICHIGAN Y OJO DE CABRA.

	MICHIGAN	OJO DE CABRA
	ACIDO FITICO mg/FRIJOL	
TIEMPO DE COCCION (MIN)		
0	1.703	2.542
15	1.793	2.626
30	1.886	2.613
45	1.975	2.772
60	1.991	2.820
90	2.025	2.862

La extracción de AF se realizó de acuerdo con lo establecido en la tabla 2 al igual que la determinación de éste. Las diferencias entre los valores a los diferentes tiempos de cocción de una misma variedad no fueron significativamente diferentes ( $P < 0.01$ );  $n=3$ .

## Participación del Acido Fítico en el proceso de cocción.

Se ha sugerido (Moscoso et al 1984), que durante la cocción del frijol el AF sale del cuerpo protéico que lo contiene y difunde hacia el exterior de la célula. de tal manera que a su paso por la pared celular se acompleja con los iones de calcio y magnesio presentes en ésta estructura, permitiendo que las pectinas se solubilicen y por lo tanto el grano se suavice (Kon y Sanshuck 1981, Moscoso et al 1984). Para validar el modelo se requiere determinar que el AF difunde al exterior del grano o cuando menos al exterior de la célula. La capacidad del AF para difundir a la parte externa de cualquiera de las dos estructuras se determinó por cuantificación del AF en el caldo de cocción. A ningún tiempo previo al cual el grano fuera comestible (60 min para Michigan y de 120 min para Ojo de cabra) se encontró AF en el caldo de cocción, para demostrar que éste resultado no era debido a la interferencia de algunos de los compuestos presentes en el agua de ebullición, se cuantificaron los contenidos de AF presentes en el grano después de diferentes tiempos de ebullición (Tabla 3). Los niveles de AF en granos control de ambas variedades fué similar al que presentó el grano antes de la cocción, indicando que durante el proceso de cocción el AF no difundió del grano, o que sí lo hizo, pero al interaccionar con los iones divalentes formó un complejo insoluble que precipitó en la misma pared celular. La formación y presencia de éste complejo puede detectarse a través de los cambios de solubilidad que el AF sufre durante el proceso de cocción. El complejo AF-ion divalente no sería soluble en agua pero sí en TCA (Cheryan 1980) de forma tal

que si a diferentes tiempos de cocción se determina el AF del grano soluble en agua y en TCA y luego se obtiene la diferencia, ésta representaría el AF que interaccionó con los iones divalentes.

El resultado de tal experimento, para ambas variedades, se muestra en la tablas 4 y 5. Puede observarse que el AF no cambia sus propiedades de solubilidad durante la cocción. La difusión del AF y la formación del complejo AF-ión no se determinó en los lotes deteriorados.

#### Participación de las proteínas en el proceso de cocción.

Debido a que el AF parecía no ser el quelante citoplasmático se buscó determinar si la proteínas estaban desempeñando dicha función. Para ello se determinó la cantidad de proteína solubilizada y difundida al medio durante la cocción (Tabla 6).

El porcentaje de proteínas solubilizadas al momento en que el frijol es comestible para el caso de la variedad Michigan (60 min) corresponde solo al 3.27 % de las proteínas totales; para la variedad Ojo de cabra tenemos que a los 120 min las proteínas solubilizadas corresponden al 3.7 % de las sus proteínas totales.

Sería difícil pensar que éstas cantidades de proteína pudieran contribuir en forma importante a la solubilización de la lamela media, aunque no podamos establecer si éstas poseen un número de sitios que sean suficientes para quelar los iones necesarios para la solubilización de las pectinas. Los porcentajes de la proteína solubilizada por los frijoles deteriorados son aún

TABLA 4. EFECTO DE LA COCCION EN LA SOLUBILIDAD DEL ACIDO FITICO  
EN GRANOS DE LA VARIEDAD MICHIGAN.

TIEMPO DE COCCION (MINUTOS)	AGUA <sup>a</sup>	TCA <sup>b</sup>
	ACIDO FITICO mg/FRIJOL	
0	2.160±0.160	2.104±0.015
45	2.162±0.178	2.486±0.206
60	2.351±0.054	2.146±0.052

<sup>a</sup>La extracción del AF se realizó homogenizando 1 g de cotiledón en 20 ml de agua y la determinación por el método de Haug-Lantzsch (1983).

<sup>b</sup>La extracción y determinación del AF se realizó de acuerdo con lo especificado en la tabla 2.

Se reporta el contenido de AF (mg/frijol) ± su desviación estandar; n=3.

Las diferencias entre los contenidos totales de AF no son significativamente diferentes (P<0.01).

TABLA 5. EFECTO DE LA COCCION EN LA SOLUBILIDAD DEL ACIDO FITICO  
EN GRANOS DE LA VARIEDAD OJO DE CABRA.

TIEMPO DE COCCION (MINUTOS)	AGUA <sup>a</sup>	TCA <sup>b</sup>
	ACIDO FITICO mg/FRIJOL	
0	3.730±0.180	3.604±0.020
45	3.822±0.020	3.766±1.060
60	3.289±0.100	3.602±0.610

<sup>a</sup>La extracción del AF se realizó homogenizando 1 g de cotiledón en 20 ml de agua y la determinación por el método de Haug-Lantzsch (1983).

<sup>b</sup>La extracción y determinación del AF se realizó de acuerdo con lo especificado en la tabla 2.

Se reporta el contenido de AF (mg/frijol)  $\bar{x}$  su desviación estandar; n=3.

Las diferencias entre los contenidos totales de AF no son significativamente diferentes (P<0.01).

más bajos, por lo que ya no son considerados.

Los resultados anteriores no permiten definir si las proteínas se acomplejan con iones divalentes presentes en la lamela media, por lo que no se pudo establecer si éstas proteínas que difunden participan en la solubilización y fractura de la lamela media.

TABLA 6. CANTIDAD DE PROTEINA SOLUBILIZADA A LOS 120 MINUTOS DE COCCION DE CADA UNO DE LOS LOTES DE FRIJOL.

VARIEDAD	CONTROL	DETERIORADO
	PROTEINA mg/FRIJOL	
MICHIGAN	2.095 $\pm$ 0.09	0.613 $\pm$ 0.16
OJO DE CABRA	2.076 $\pm$ 0.82	1.166 $\pm$ 0.28

La proteína soluble de la cocción se determinó a partir de una alícuota del medio donde los frijoles ebulleron, por el método de Lowry modificado por Peterson (1977).

Se reporta el valor correspondiente al contenido de proteína (mg/frijol)  $\pm$  la desviación estandar; n=3.

### Contenido y distribución de las pectinas.

La cantidad total de pectinas es mayor en la variedad Ojo de cabra que en la variedad Michigan, radicando ésta diferencia principalmente en la cantidad de pectina presente en la testa (tabla 7).

Por lo que respecta a las características estructurales de las pectinas de granos control de ambas variedades se puede decir que la variedad Michigan presenta una mayor proporción de pectinas solubles en agua caliente (33%) que la variedad Ojo de cabra (26%) (tablas 8 y 9).

El contenido de propectinas es mayor en la variedad Ojo de cabra y se encuentran principalmente localizadas en la testa.

A pesar de estas diferencias el contenido total de pectinas y el porcentaje de ácidos pécticos y propectinas en los cotiledones de los granos control de las dos variedades son similares (tablas 8 y 9).

Los datos anteriores muestran que el contenido de pectinas extraíbles con hexametáfosfato no se relacionan con la velocidad de cocción como tampoco la extraída de la testa. Sin embargo existe una relación inversa entre la cantidad de pectinas extraíbles con hexametáfosfato del cotiledón y los respectivos tiempos de cocción ( $r^2 = 0.97$ ).

En la tabla 10 se muestran las pectinas liberadas del cotiledón cuando el frijol alcanza su t<sub>50</sub>. La cantidad de pectinas liberadas por cada lote es diferente, siendo mayor entre menor fué el tiempo de cocción con excepción de los frijoles de la variedad Michigan.

TABLA 7. NIVELES DE PECTINAS EN TESTA Y COTILEDON DE FRIJOL  
CONTROL Y DETERIORADOS DE LAS VARIEDADES MICHIGAN Y OJO  
DE CABRA.

VARIEDAD	TESTA	COTILEDON	TOTAL
	PECTINA mg/FRIJOL		
MICHIGAN CONTROL	120±0.33	6.28±0.90	7.48
MICHIGAN DETERIORADO	168±0.55	3.08±0.04	4.76
OJO CABRA CONTROL	6.78±1.41	5.76±1.18	12.54
OJO CABRA DETERIORADO	2.13±0.43	4.82±0.14	6.94

La extracción de las pectinas se realizó homogenizando 0.10 g de testa y 0.30 g de cotiledón en 3 y 8 ml de hexametáfosfato de sodio e incubando la mezcla a 90°C por 24 horas. Del sobrenadante, resultado de centrifugar la muestra, se tomó una alícuota y la determinación se realizó de acuerdo con el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973).

Los valores se reportan como la cantidad de pectina (mg/frijol) ± la desviación estandar; n=3.

TABLA 8. NIVELES DE PECTINAS CON DIFERENTE SOLUBILIDAD PRESENTES  
EN LA VARIEDAD MICHIGAN.

	CONTROL		DETERIORADO	
	TESTA	COTILEDON	TESTA	COTILEDON
PECTINAS mg/ FRIJOL				
SOLVENTE				
H <sub>2</sub> O FRIA <sup>a</sup>		0.029±0.020		0.249±0.29
H <sub>2</sub> O CAL. <sup>b</sup>	0.12±0.1	2.10±0.23	0.23±0.03	0.70±0.01
HMP DE Na <sup>c</sup>	1.07±0.2	4.17±0.62	1.20±0.34	2.39±0.03

<sup>a</sup>La determinación de pectinas solubles en agua fría se realizó a partir del agua donde los frijoles enteros se habían remojado por 18 horas.

<sup>b</sup>La extracción con agua caliente se hizo homogenizando la testa y el cotiledón en forma independiente y ebuliendo éstos por 90 minutos.

<sup>c</sup>La última extracción se realizó con hexametáfosfato de sodio en la pastilla restante de la extracción con agua caliente, incubando la mezcla a 90°C por 24 horas.

La determinación de las pectinas se realizó por el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973).

Los valores son reportados como la cantidad de pectinas (mg/ frijol) ± la desviación estandar; n=3.

TABLA 9. NIVELES DE PECTINAS CON DIFERENTE SOLUBILIDAD PRESENTES  
EN LA VARIEDAD OJO DE CABRA.

	CONTROL		DETERIORADO	
	TESTA	COTILEDON	TESTA	COTILEDON
PECTINAS mg/ FRIJOL				
SOLVENTE				
H <sub>2</sub> O FRIA <sup>a</sup>		0.021±0.020		0.308±0.19
H <sub>2</sub> O CAL. <sup>b</sup>	0.05±0.2	150±0.24	0.04±0.02	154±0.01
HMP DE Na <sup>c</sup>	6.72±14	4.26±0.93	1.78±0.32	3.28±0.13

<sup>a</sup>La determinación de pectinas solubles en agua fría se realizó a partir del agua donde los frijoles enteros se habían remojado por 18 horas.

<sup>b</sup>La extracción con agua caliente se hizo homogenizando la testa y el cotiledón en forma independiente y ebuliendo éstos por 90 minutos.

<sup>c</sup>La última extracción se realizó con hexametáfosfato de sodio en la pastilla restante de la extracción con agua caliente, incubando la mezcla a 90°C por 24 horas.

La determinación de las pectinas se realizó por el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973).

Los valores son reportados como la cantidad de pectinas (mg/ frijol) ± la desviación estandar; n=3.

Las cantidades de pectinas encontradas en el caldo de cocción podrían estar influidas por la capacidad de difusión que estas presenten una vez que se han solubilizado.

Para evitar la influencia de la testa en la difusión de la pectina al caldo de cocción se determinó la cantidad de pectina solubilizada cuando se hierve harina de cotiledón a la cual previamente se le removió la testa.

La cantidad de pectina solubilizada durante la cocción del grano o de la harina fueron similares para todos los lotes con excepción del lote de la variedad Michigan control la cual se incrementa cuando se elimina la barrera de la testa, lo que podría indicar que esta misma cantidad se solubiliza durante la cocción pero no alcanza a difundir al medio de cocción (tabla 10).

Analizando todos los datos referentes a pectinas, parece ser que las responsables de la suavización del grano durante la cocción son las presentes en el cotiledón.

TABLA 10. CANTIDAD DE PECTINA LIBERADA AL MEDIO DE COCCION AL  $T_{50}$   
DE CADA UNO DE LOS LOTES DE FRIJOL, UTILIZANDO FRIJOLES  
ENTEROS Y HARINA DE COTILEDO

	CONTROL		DETERIORADO	
	PECTINA SOLUBILIZADA AL $T_{50}$			
	FRIJOL	HARINA	FRIJOL	HARINA
VARIEDAD				
MICHIGAN	0.324 $\pm$ 0.01	1.835 $\pm$ 0.20	0.655 $\pm$ 0.08	0.698 $\pm$ 0.1
OJO DE CABRA	1.544 $\pm$ 0.25	1.500 $\pm$ 0.45	1.131 $\pm$ 0.56	1.150 $\pm$ 0.3

La pectina solubilizada al  $t_{50}$  se determinó a partir de una alícuota del medio de cocción al tiempo correspondiente para cada variedad de acuerdo con el método de Blumenkrantz y Asboe-Hansen (1973).

Los valores se reportan como la cantidad de pectina (mg/frijol)  $\pm$  la desviación estandar; n=3.

## DISCUSION

En este trabajo se exploró la posibilidad de que la ruptura y solubilización de la lamela media, inducida durante el proceso de suavización térmica del frijol, se produjera debido a alguna de las siguientes propuestas o por una combinación de ambas: a) la remoción de los iones divalentes de la lamela media y/o b) la termorrelajación de las pectinas que son parte integral de la lamela media.

Los datos de la literatura sugieren que las biomoléculas involucradas en la suavización del grano son básicamente dos; el ácido fítico (Kon y Sanshuck 1981, Moscoso et al. 1984) y las pectinas (Loh y Breene 1982). Por sus características estructurales el AF puede actuar como quelante de los iones calcio y magnesio de la lamela media, lo cual provocaría que ésta se solubilizara (Moscoso et al. 1984) y por lo tanto el grano se suavizara. Las proteínas jugarían un papel similar al del AF, ya que al presentar cargas negativas también serían susceptibles de interactuar con los cationes asociados al ácido galactaurónico de las pectinas.

Como segunda opción, de acuerdo con la literatura, estarían las pectinas de la lamela media, las cuales, dependiendo de sus características mostrarían diferentes grados de estructuración (Loh y Breene 1982), lo que a su vez se reflejaría en la dureza del tejido y por lo tanto en la velocidad con la cual se reblandecería durante la cocción.

Los diferentes grados de estructuración de las pectinas están

dados por su grado de metilación (Hudson y Buescher 1986), su peso molecular y número de entrecruzamientos con otros polímeros (Gonda et al. 1989), así como por la proporción de cada uno de los diferentes tipos de pectinas y otros polisacáridos que formaran parte de la lamela media (Goto 1989). Esta composición de la lamela media podría reflejarse en su termosensibilidad durante la cocción.

Para que el AF o las proteínas actúen como quelantes en el proceso de cocción deben pasar del compartimiento citoplásmico donde se localizan (Prattley y Stanley 1982, Bewley y Black 1986), hacia el exterior de la célula y alcanzar la lamela media donde se encuentran las especies iónicas ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ) que deben quelar o bien los iones divalentes de la lamela media migrar hacia el interior del citoplasma. De cualquier forma la interacción ion-AF ó ion-proteína puede resultar en un complejo soluble y difusible y entonces se encontraría en el caldo de cocción, ó bien soluble y no difusible, ó insoluble con lo cual precipitaría en su sitio de acción. El hecho de que el AF no salga del grano durante la cocción, ni cambie su solubilidad (tablas 4,5 y 6) a lo largo del proceso, sugiere que si el AF actúa como quelante el quelato formado es soluble y no difusible, sin embargo esta posibilidad tampoco parece probable por que está demostrado que la solubilidad del complejo AF-calcio a pH entre 6 y 7 es del 50 % si la relación metal/AF es 1 ó del 10 % si es de 3.75 (Cheryan 1980). También existe la posibilidad de que durante la cocción la proporción de AF a iones divalentes removidos de la lamela media sea menor de uno y el complejo AF-metal formado fuese soluble.

En este trabajo se demuestra que el AF no difunde durante la cocción. Estos resultados son contrarios a lo reportado por Chang (1977), en donde se utilizaron frijoles morfológicamente similares a los de la variedad Michigan, y se registró un decremento del 50 % en el contenido de AF en el grano después de haber cocido por 3 horas a 90°C; después de un período de cocción de tales magnitudes el frijol seguramente ha perdido su estructura y su contenido citoplasmático se ha vertido al medio de cocción, sino en su totalidad si una buena parte de éste, pues se sabe que el tiempo de cocción de dichos frijoles es de 30 min (Sefa-Dedeh y Stanley 1979).

En otro trabajo se determinaron los niveles de AF durante el remojo y varias modalidades de cocción, encontrándose que los niveles de AF permanecieron constantes durante la cocción (Khokhar y Chauhan 1986).

Los resultados hasta aquí descritos sugieren que el AF no actúa como quelante en el proceso de ablandamiento del grano de frijol, y que si acaso participa no es la biomolécula que determine la velocidad de cocción, ya que no se encontró correlación entre el tiempo de cocción y el contenido de AF.

Dado que el AF no parecía ser el quelante de los iones calcio y magnesio se estudiaron a las proteínas como posibles candidatos a realizar tal función.

Los niveles de proteína solubilizada durante la cocción del grano representó un porcentaje muy pequeño del contenido total de proteínas. A la fecha no se ha establecido el origen de éstas proteínas el cual puede ser diverso, cuerpos proteicos.

citoplasma, lamela media, etc (Bewley y Black 1986).

En relación a los datos obtenidos sobre la distribución y caracterización de las pectinas, es evidente que la cantidad de pectinas presentes en el grano es mayor para la variedad Ojo de cabra que para la variedad Michigan (tabla 7). En cuanto a su distribución, los niveles de pectina en el cotiledón son prácticamente los mismos en ambas variedades y la diferencia respecto a la cantidad total radica en los niveles registrados para la testa, los cuales son 3 veces mayores en Ojo de cabra que en Michigan (tabla 7 y 8). Los niveles de pectinas metiladas y de ácidos pécticos (solubles en agua) provienen principalmente del cotiledón, ya que la cantidad de pectina solubilizada de la testa correspondió a aproximadamente el 5 % del total solubilizado con los tratamientos de agua fría y de agua caliente (tabla 8 y 9). Por lo tanto, podemos asumir que las pectinas que están interviniendo directamente en la suavización del grano durante la cocción corresponde a las presentes en el cotiledón. Sin embargo las diferencias en los t<sub>50</sub> observadas en cada una de las variedades aquí estudiadas (tabla 1) no pueden ser explicadas a través de las diferencias en los contenidos de pectinas en el cotiledón, ya que ambas presentan contenidos similares. Lo anterior sugiere que las pectinas en cada variedad y lote son cualitativamente diferentes, lo que indicaría que las diferencias en el t<sub>50</sub> se debe a disimilitudes en las características estructurales de las pectinas. En forma indirecta se demostró que éste era el caso, ya que las cantidades de pectinas metiladas y ácidos pécticos que difundieron al medio al tiempo del t<sub>50</sub> de

frijoles enteros fué diferente para cada lote aquí estudiado (tabla 10), más aún se encontró una relación inversa ( $r^2= 0.99$ ) entre el porcentaje de pectinas solubilizadas en agua caliente y la velocidad de cocción de cada lote.

## CONCLUSIONES

Del presente trabajo se puede concluir que:

El contenido de ácido fítico es diferente para los lotes aquí estudiados y no determina el tiempo de cocción de los frijoles.

El ácido fítico no difunde al medio y no cambia su solubilidad durante la cocción.

Las proteínas difunden en baja proporción durante la cocción.

La cantidad de pectina total y sus diferentes fracciones no son iguales entre variedades.

El porcentaje de pectinas solubles en agua caliente y en hexametáfosfato del cotiledón es proporcional al tiempo de cocción de los frijoles.

## APENDICE I

### REACTIVOS PARA LA DETERMINACION DE ACIDO FITICO.

#### Solución Ferrosa:

Se disuelven 0.2 g de sulfato de amonio ferroso (Merck Art. 3776) en 100 ml de HCl 2 N y todo se afora a 1000 ml con agua bidestilada.

#### Solución de Bpiridina:

Se mezclan 10 g de 2'-2' bpiridina en 10 ml de ácido tioglicólico. una vez disuelta la bpiridina la mezcla se completa a 1000 ml con agua bidestilada.

#### Solución de Fitato de Sodio:

Solución que se prepara disolviendo 0.15 g de fitato de sodio (Sigma Art. P-5756) en 100 ml de agua bidestilada.

## APENDICE II

### REACTIVOS PARA LA DETERMINACION DE PROTEINAS.

- 1) Desoxicolato de sodio al 0.15 % (DOC)
- 2) Acido tricloroacético al 50 % (TCA)
- 3) Solución de carbonato tartrato de cobre (CTC)
- 4) Dodecil sulfato de sodio al 10 % (SDS)
- 5) Hidróxido de sodio 0.8 N (NaOH)
- 6) Reactivo de Folin-Ciocalteu

Para preparar el CTC a una solución de carbonato de sodio al 10 % se la añade sulfato de cobre hasta una concentración al 0.1 % y tartrato de potasio hasta una concentración del 0.2 %.

#### Reactivo A:

Mezclar partes iguales de las soluciones de CTC, NaOH, SDS y agua.

#### Reactivo B:

Un volumen de reactivo de Folin-Ciocalteu es mezclado con 5 volúmenes de agua bidestilada.

### APENDICE III

#### REACTIVOS PARA LA DETERMINACION DE PECTINAS.

##### Solución de orto-hidroxi-difenil:

Se mezclan 0.15 g de orto-hidroxi-difenil en 100 ml de una solución de hidróxido de sodio al 0.5%.

##### Solución de ácido sulfúrico/tetraborato:

Una solución (0.0125 M) de tetraborato de sodio en ácido sulfúrico concentrado se prepara,dejando en agitación y 40°C por 2 horas para asegurar que todo el tatraborato de sodio se disuelva.

## REFERENCIAS

- Aguilera J.M. y Ballivian A. 1987. A kinetic interpretation of textural changes in black beans during prolonged storage. *J. Food Sci.* 52 :691-695.
  
- Bewley D. y Black M. 1986. *Seeds physiology of development and germination*. Segunda edición. Plenum Press. Nueva York y Londres.
  
- Blumenkrantz N y Asboe-Hansen G. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* 54: 484-489.
  
- Bressani R., Elias L.G., Wolzak A., Hagerman A.N. y Butler L.G. 1983. Tannin in common beans: Methods of analysis and effects on protein quality. *J. Food Sci.* 48: 1000-1003.
  
- Chang R.S. y Burr H.K. 1977. Phytate: removal from whole dry beans by enzymatic hydrolysis and diffusion. *J. Food Sci.* 42: 1098-1101.
  
- Chang R.S., Kennedy M.B. y Schwimmer S. 1979. Effects of autolysis on the nutritional qualities of beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* 42: 1141-1143.
  
- Cheryan M. 1980. *Phytic acid interactions in food systems*. CRC

Brit. Rev. Food Sci. Nut. :297-335.

- Cochran W.G. y Cox M.G. 1987. Diseños experimentales. Ed.Trillas.

- Dos Santos R.G. y Bourne M.C. 1985. Effect of storage conditions of dry beans seeds (*Phaseolus vulgaris*) on texture profile parameters after cooking. J. Food Sci. 50: 1067-1071.

- Díaz de León F. 1989. Relación entre el grado de metilación de la pectina y el tiempo de cocción de algunas variedades de frijol. Tesis de Licenciatura Facultad de ciencias. ✓

- Fuchigami M. 1987. Relationship between pectic composition and the softening of the texture of Japanese radish root during cooking. J. Food Sci. 52 : 1317-1320.

- Gonda R., Tomoda M., Kanari M., Yoneda N., Shimizu T., Shigeshiro K. y Yazawa T. 1988. Constituents of the seed of *Malva verticillata*. III. Characterization of the major pectic peptidoglycan and oligosaccharides. Chem. Pharmacol. Bull. 36 : 2790-2795.

- Goto A. 1989. Relation between pectic substances and calcium in healthy gelled and granulated juice sacs of sand boker fruit. Plant cell physiol. 30 : 801-806. 89

- Gutierrez G. 1986. Aspectos bioquímicos del endurecimiento del frijol. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias.
  
- Hanh D.M., Jones F.T., Akhavan I. y Rockland L.B. 1977. Light and scanning electron microscope studies on dry beans: intracellular gelatinization of starch in cotyledons of large lima beans (*Phaseolus lunatus*). J. Food Sci. 42 : 1208-1211.
  
- Haug W. y Lantzch H.J. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals products. J. Food Sci. 34: 1423-1426.
  
- Hudson J.M. y Buescher R.W. 1986. Relationship between degree of pectin methylation and tissue firmness of cucumbers pickles. J. Food Sci. 51 : 138-149.
  
- Jones P.M.B. y Boulter D. 1983. The causes of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* following adverse storage conditions. J. Food Sci. 48: 623-626.
  
- Khokhar S. y Chauhan B.M. 1986. Antinutritional factors in Moth beans (*Vigna acontifolia*): varietal differences and effects of methods of domestic processing and cooking. J. Food Sci. 51 : 591-594.
  
- Kon S. y Sanshuck D.W. 1981. Phytate content and its effects on cooking quality of beans. J. Food Sci. 5: 169-178.

- Loh J. y Breene W.M. 1982. Between species differences in fracturability loss: Comparison of the thermal behavior of pectic and cell wall substances in potato and chinese waterchestnut. J. Text. studies. 13: 381-396.
  
- Loh J., Breene W.M. y Davies N. 1982. Between species differences in fracturability loss: Microscopic and chemical comparison of potato and chinese waterchestnut. J. Text. studies. 13: 325-347.
  
- Lolas G.W. y Markakis P. 1977. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). J. Food Sci. 42 : 1094-1097.
  
- Matsura Y. y Hatanaka Ch. 1988. Weakly acidic pectic polisaccharides of Japanese radish and cabbage. Agric. Biol. Chem. 52 : 2583-2588.
  
- McFeeters R.F. y Armstrong S.A. 1984. Measurement of pectin methylation in plant cell walls. Anal. Biochem. 139: 212-217. ✓
  
- Moreno E y Ramirez J. 1986. Comportamiento de siete variedades de frijol almacenado bajo diferentes temperaturas. Turrialba. 37: 1255-1260.
  
- Moscoso W., Bourne M.C. y Hood L.F. 1984. Relationship between the hard to cook phenomenon in red kidney beans and water

absorption,puncture force,pectin,phytic acid and minerals.J. Food Sci. 49: 1577-1583.

- Peterson G.L. 1977. A simplification of the protein assay method of Lowry et al wich is more generally applicable.Anal. Biochem. 83: 346-351.

- Prattley C.A. y Stanley D.W. 1982. Protein-Phytate interactions in soybeans.I.Localization of phytate in protein bodies and globoids.J. Food Biochem. 6: 243-253.

- Quast D.C. y Da Silva S.D. 1977. Temperature dependence of the cooking rate of dry legumes.J. Food Sci. 42 : 370-374.

- Quiroz R.M. y Bernal I. Determinación de la velocidad de cocción de 8 variedades de frijol y sus contenidos de ácido fítico y proteínas.Manuscrito en preparación.

- Rao M.A. y Lund D.B. 1977. Kinetic of thermal softening of foods a review.J. Food Proc. and Preserv. 10 : 370-374.

- Rockland B.L.,Francis T. y Hang D.M. 1977. Light and scanning electron microscope studies on dry beans:Extracellular gelatinization of lima beans starch in water and mixed salt solutions.J. Food Sci. 42 : 1204-1207.

- Robertson G.L. 1979. The fractional extraction and quantitative

- of termination of pectic substances in grapes and musts. *Am. Journal of Enol. Vitic.* 30 : 182-186.
- Sefa-Dedeh S. y Stanley D.W. 1979. Effect of storage time and conditions on the hard to cook defect in cowpeas (*Vigna unguiculata*). *J. Food Sci.* 44: 790-796.
  - Sefa-Dedeh y Stanley D.W. 1979. Textural implications of the microestructure of legumes. *Food technology* .: 77-83.
  - Silva B.C.A. Bates R.P. y Deng J.C. 1981. Influence of pre-soaking on black bean cooking kinetics. *J. Food Sci.* 46: 1721-1725.
  - Stanley D.W. y Aguilera J.M. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes the influence of structure composition. *J. Food Biochem.* 9: 277-323.
  - Van buren J.P. 1986. Snap bean texture softening and pectin solubilization caused by the presence of salt during cooking. *J. Food Sci.* 51 : 131-134.
  - Varriano-Martson E. y Jackson G.M. 1981. Hard to cook phenomenon in beans: Structural changes during storage and imbibition. *J. Food Sci.* 46: 1379-1385.