

C



# Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

## Suplementación de Frijoles con Metionina

### T E S I S

Que para obtener el título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

Gerardo Herrador Peña



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.

CLAS TESIS 1978  
AÑO M.T. ~~1977~~  
FECHA \_\_\_\_\_  
PROC 224  
S \_\_\_\_\_



Jurado asignado originalmente  
según el tema.

PRESIDENTE. NINFA GUERRERO DE CALLEJAS

VOCAL. ENRIQUE GARCIA GALEANO

SECRETARIO. MIGUEL HERNANDEZ INFANTE

1er. SUPLENTE. ANGELA SOTELO LOPEZ

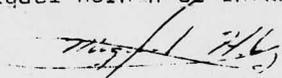
2do. SUPLENTE. ERILIO BARRAGAN HERNANDEZ

Sitio donde se desarrolló el tema: Lab. de Bronatología. Subiefatura  
de Investigación Basica. Centro Medico Nacional.

Nombre completo y firma del sustentante: Gerardo Herrador Peña.



Nombre completo y firma del asesor del tema: Miguel Hernandez Infante.



# I N D I C E

I.- INTRODUCCION .....	1
II.- OBJETIVOS .....	3
III.- GENERALIDADES .....	4
Producción nacional .....	5
Composición general de las leguminosas .....	6
Toxicidad de las leguminosas .....	9
Valor nutritivo del frijol cocido .....	11
Mejoramiento del valor nutricional .....	15
Síntesis, producción y costos de metionina .....	18
IV.- MATERIAL Y METODOS .....	23
1.- Materiales .....	23
1.1.- Tratamiento de las muestras .....	23
2.- Metodos .....	25
2.1.- Químicos .....	25
2.2.- Biológicos .....	32
V.- RESULTADOS .....	35
VI.- DISCUSION .....	39
VII.- CONCLUSIONES .....	44
VIII.- BIBLIOGRAFIA .....	46

correcto

I

INTRODUCCION

②

<sup>mucho</sup> El frijol ha sido durante mucho tiempo parte importante de la dieta del mexicano; esto probablemente debido a la escasez de alimentos de origen animal, y a los costos tan elevados de dichos productos; sobre todo en la población de bajo nivel económico y en las zonas rurales.

Las leguminosas en general, a las que pertenece el frijol, además de ser una buena fuente proteico - calórica ( de 20 a 25 % de proteína y alrededor de 60 % de carbohidratos ); lo es -- también de vitaminas y minerales, esenciales en la nutrición humana. Sin embargo a pesar de tener un papel tan significativo en la alimentación, incluso de países desarrollados, su uso parece ser limitado, debido a su baja producción, elevado costo, y ciertas - deficiencias en sus cualidades nutricionales y uso alimenticio.

Otros de los problemas existentes en los frijoles son - la presencia de factores tóxicos ( hemaglutininas; inhibidores de tripsina, etc. ), flatulencia, baja digestibilidad.

Se ha visto que muchos de estos problemas pueden eliminarse, mediante una buena cocción de estas leguminosas logrando - con ello una eliminación casi total de los tóxicos.

Se conoce que la proteína de los frijoles es de baja ca lidad, debido a que es deficiente en algunos aminoácidos esencia-

les, principalmente la metionina que es el aminoácido que limita el aprovechamiento de estos vegetales. Este problema podría resolverse mediante mejoramiento genético; supliendo la falta de dichos aminoácidos en la dieta con la adición de los mismos; o por suplementación con otros alimentos como son los cereales.

## II

### O B J E T I V O S

1.- Conocer el efecto de la suplementación con metionina en dos diferentes frijoles, sobre su valor nutritivo y su digestibilidad.

2.- Encontrar el método mas adecuado de suplementación de frijoles, añadiendo el suplemento en tres etapas diferentes de su procesamiento.

3.- Conocer el efecto que la cocción tiene en la destrucción de la metionina añadida.

4.- Comparar el valor nutritivo entre los frijoles para promover su mayor consumo.

5.- Encontrar por medio del análisis estadístico algún parámetro químico que correlacione con el valor nutritivo medido por métodos biológicos.

### III

#### GENERALIDADES

Las leguminosas son plantas herbáceas pertenecientes a la familia de las Leguminosae ( dicotiledóneas ); son cultivadas tanto en los trópicos, como en las zonas templadas y regiones subárticas. Comprende cerca de 600 géneros y más de 13 000 especies (1,2), de las cuales únicamente de 10 a 12 tienen importancia nutricional y económica. Dentro de las Leguminosae existen tres subfamilias que son las Papilionaceae, Mimosae y Caesalpinieae (1,3) de estas las utilizadas como alimento para el hombre y los animales son las Papilionaceae, denominadas así por la forma de mariposa de sus flores.

Las leguminosas tienen una gran importancia agronómica, debido a los efectos benéficos que tienen sobre el terreno de cultivo, ya que como es conocido (1,2), están en simbiosis con las bacterias Rhizobium (3,4), pues los nódulos que contienen las raíces de estas plantas, constituyen su habitat, teniendo la habilidad de fijar el nitrógeno atmosférico; consecuentemente al podrirse las raíces, enriquecen el terreno, liberando el nitrógeno contenido en ellas. Siendo ésto de importancia primordial, en la rotación de leguminosas con cereal, pues también reducen la cantidad de maleza, enfermedades y problemas de insectos (2). Por otro lado según el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)

(5) es conveniente se hagan cultivos asociados de cereal (esencialmente maíz) y frijol, pues podrían reducir la lixiviación y erosión, especialmente en terrenos pendientes, y estimula un aumento en la fijación de nitrógeno.

#### PRODUCCION NACIONAL

Segun los datos proporcionados por la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH) (Tabla I), de 1971 a 1976 se observa que de las leguminosas cultivadas en México, la de mayor producción es el frijol, probablemente debido a que es la de mayor consumo, por consiguiente la que tiene más demanda.

Durante 1972 se observa una disminución en la producción de frijol, haba y lenteja, al igual que en 1974 ocurre con arve-jón, frijol, garbanzo comestible, haba, lenteja y soya, siendo más drástica la del frijol en 1972, arve-jón en 1974, y la de garbanzo comestible, garbanzo forrajero y soya durante 1976. Estos cambios seguramente son debidos a factores ambientales no previstos por el agricultor; aunque siempre existe una marcada tendencia al aumento en la producción.

En la tabla II se presenta la producción de frijol por estados y pueden observarse bajas en la producción de frijol durante 1973 en Colima y Nayarit, y durante 1974 en Baja California Sur, Hidalgo y Veracruz, encontrándose una disminución bastante grande durante 1975 en el estado de Veracruz. Aunque existen estas

(TABLA I)  
 PRODUCCION AGRICOLA DE ALGUNAS LEGUMINOSAS  
 1971 - 1976  
 EN LA REPUBLICA MEXICANA

	1971	1972	1973	1974	1975	1976
	TONELADAS					
Alverjón	1887	2381	2682	1409	2380	2582
Chícharo	35660	46154	48057	58683	62400	53193
Frijol	9 53, 785	869596	1,008, 887	971576	1,027, 303	1,149 244
Garbanzo Comestible	19 027	59524	98834	79440	88 800	17 059
Garbanzo Forrajero	147 918	168 530	127193	169771	173 550	56 398
Haba	39 835	39 585	37900	23419	34 720	36 637
Lenteja	6 037	5 029	7668	6364	6 630	7 608
Soya	255 878	376 810	586 474	491084	698 777	319 285

Fuente: Dirección General de Economía Agrícola, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

(TABLA II)  
 PRODUCCION DE FRIJOL  
 1972-1973

ENTIDAD	Sup. cosechada		Rendimiento		Producción		
	Hectáreas		Kg/Ha		Toneladas		% en 1973
	1972	1973	1972	1973	1972	1973	
TOTALES DE LA REPUBLICA	1582371	1617209	596	474	942967	766955	100.0
Aguascalientes	20389	48250	747	449	15231	21664	2.8
Baja California Norte	1031	1969	1371	966	1413	1902	0.2
Baja California Sur	500	--	1000	--	500	--	--
Campeche	5500	4300	366	346	2013	1488	0.2
Coahuila	4444	5329	686	562	3049	2995	0.4
Colima	4460	485	637	416	2841	202	(-)
Chiapas	75325	73500	461	654	34725	48069	6.3
Chihuahua	113662	116562	606	318	68879	37067	4.8
Distrito Federal	1760	3043	885	759	1558	2310	0.3
Durango	130713	214984	1006	411	131497	88358	11.5
Guanajuato	146800	108000	557	409	81768	44172	5.8
Guerrero	25690	21103	603	733	15491	15468	2.0
Hidalgo	31400	28200	371	437	11649	12323	1.6
Jalisco	295845	232619	344	459	98812	106772	13.9
México	25000	25000	475	450	11875	11250	1.5
Michoacán	78876	83304	195	137	15381	11413	1.5
Morelos	10099	8980	687	1444	6938	12967	1.7
Nayarit	81977	200	1115	200	91404	40	(-)
Nuevo León	6002	6293	763	1082	4580	6809	0.9
Oaxaca	84707	77275	449	585	38033	45206	5.9
Puebla	39335	60700	132	347	5192	21063	2.8
Querétaro	9180	32700	255	617	2341	20176	2.6
Quintana Roo	641	--	270	--	173	--	--
San Luis Potosí	62500	76000	496	657	31000	49932	6.5
Sinaloa	45850	--	1480	--	67858	--	--
Sonora	1136	1250	1622	1368	1843	1710	0.2
Tabasco	5080	--	866	--	4501	--	--
Tamaulipas	3064	10089	536	622	1642	6275	0.8
Tlaxcala	7621	7610	563	211	4291	1606	0.2
Veracruz	129524	85864	913	981	118255	84233	11.0
Yucatán	15000	20500	343	356	5145	7298	1.0
Zacatecas	119260	263100	529	396	63089	104188	13.6

(-) Menos de 0.1 %

Fuente: Dirección General de Economía Agrícola. Secretaría de Agricultura y Ganadería.

(TABLA II)  
 PRODUCCION DE FRIJOL  
 1974-1975

ENTIDAD	Sup. cosechada		Rendimiento		Producción		
	Hectáreas		Kg/Ha		Toneladas		%
	1974	1975	1974	1975	1974	1975	1975
TOTALES DE LA REPUBLICA	1551877	1752638	626	586	971576	1027264	100
Aguascalientes	38700	19000	614	1380	23770	26221	2.6
B.C.N	306	2558	2006	867	612	2217	0.2
B.C.S	748	4200	1417	1300	1060	5460	0.5
Campeche	7110	6586	392	609	2791	4009	0.4
Coahuila	11351	26367	604	977	6856	25753	2.5
Colima	2305	2650	639	638	1475	1690	0.2
Chiapas	76650	78334	572	609	43850	47668	4.6
Chihuahua	141600	151800	443	845	62800	128300	12.5
D.F.	3080	3509	407	598	1255	3862	0.4
Durango	154100	95200	465	619	71800	53949	5.2
Guanajuato	84238	193300	564	865	46800	167300	16.3
Guerrero	27980	37450	684	547	19139	26473	2.0
Hidalgo	21689	22900	424	450	9204	10300	1.0
Jalisco	163100	151900	718	440	117200	66800	6.5
México	9400	41500	234	417	2200	17300	1.7
Michoacán	61480	33389	433	491	26658	16390	1.6
Morelos	7427	7300	1492	1265	11085	9235	0.9
Nayarit	78744	116756	1150	1339	90570	156388	15.2
Nuevo León	10225	11306	495	423	5065	4783	0.5
Oaxaca	48000	59047	484	619	23572	36531	3.5
Puebla	36235	26472	488	298	17697	7877	0.8
Querétaro	2550	36900	1045	322	2667	11898	1.2
Quintana Roo	152	776	546	786	130	610	-
S.L.P.	69520	42994	556	610	38670	26221	2.5
Sinaloa	49246	50600	1340	996	66014	49900	4.9
Sonora	7486	10478	1739	1022	13021	10707	1.0
Tabasco	5822	5822	1006	1006	5857	5857	0.6
Tamaulipas	52224	20854	516	369	26996	7700	0.7
Tlaxcala	7350	4050	316	1227	2323	4970	0.5
Veracruz	189730	43700	927	487	175982	21300	2.1
Yucatán	8679	11540	569	737	4946	8504	0.8
Zacatecas	175400	433400	282	155	49500	67100	6.5

( - ) Menos de 0.1 %

Fuente: Dirección General de Economía Agrícola. Secretaría de Agricultura y Ganadería.

(TABLA III)

PRODUCCION DE FRIJOL  
1976

CICLO PRIMAVERA-VERANO

Entidad	Sup. cosechada	Rendimiento	Producción
	Hectáreas	Kg/Ha	Toneladas
TOTALES DE LA REPUBLICA	1,001,886	446	447,398
Aguascalientes	35,319	665	23,522
B.C.N.	702	1000	702
B.C.S.	2,906	365	1,063
Campeche	200	545	109
Coahuila	21,300	896	19,100
Colima	500	350	175
Chiapas	12,900	713	9,200
Chihuahua	92,200	693	63,900
D.F.	3,970	954	3,790
Durango	226,600	454	102,900
Guanajuato	60,600	315	19,100
Guerrero	2,000	400	800
Hidalgo	15,400	337	5,200
Jalisco	36,200	676	24
México	8,200	341	2,800
Michoacán	22,100	257	5,700
Morelos	1,900	526	1,000
Nayarit	-	-	-
Nuevo León	21,450	498	10,702
Oaxaca	4,700	638	3,000
Puebla	19,600	260	5,100
Querétaro	43,706	176	7,694
Quintana Roo	-	-	-
S.L.P.	73,900	365	27,100
Sinaloa	6,126	1130	928
Sonora	5,557	1352	7,518
Tabasco	2,000	800	1,600
Tamaulipas	9,300	806	7,500
Tlaxcala	1,200	500	600
Veracruz	8,100	358	2,900
Yucatán	8,450	650	5,495
Zacatecas	251,800	305	77,800

( - ) Datos no proporcionados

Fuente: Dirección General de Economía Agrícola, Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

altas y bajas en la producción a nivel estatal, debido a diversas causas como inundaciones, plagas, sequías, etc.; si se contempla la producción global nacional, tiende a aumentar.

En la tabla III se encuentran recopilados los datos de producción de frijol, únicamente de Enero a Septiembre de 1976, - pudiéndose ver que durante este período también fue buena la producción.

### COMPOSICION GENERAL DE LAS LEGUMINOSAS

**Proteínas.** Haciendo una comparación entre los alimentos vegetales, las leguminosas son las que tienen el mayor contenido proteico, el cual varía de 18 a 32 %, exceptuando soya, que tiene un mayor contenido. Como puede observarse en algunas de las tablas de alimentos existentes (6,7); la proteína de las leguminosas es el doble de la de los cereales y huevo, y algo mayor que la de la carne y pescado.

La fracción proteica está formada en su mayoría por globulinas ( proteína de almacenamiento ), siendo solubles en soluciones salinas, e insolubles en agua; en menor cantidad se encuentran albúminas ( proteína metabólica ) (8,9). Estas proteínas, al igual que la mayoría de las proteínas de origen vegetal, no son capaces de cubrir los requerimientos proteicos, ya que son deficientes en ciertos aminoácidos, principalmente de metionina y --

cistina, y en algunos casos de triptofano e isoleucina. Sin embargo tienen en general un elevado contenido de lisina, lo cual es importante en la suplementación con cereales.

Las globulinas constituyen alrededor del 80 % de la proteína total. Estas han sido divididas según su coeficiente de sedimentación en dos fracciones: vicilina (7s) y legumina (12s), encontrándose que normalmente el contenido de cistina, metionina y triptofano en vicilina es menor que en legumina.(3).

Contenido de aminoácidos. La característica más notable en el contenido de aminoácidos esenciales de las leguminosas, es su marcada deficiencia en aminoácidos azufrados, sobre todo en metionina y en algunas otras en triptofano (10), lo que hace que estos dos aminoácidos sean los limitantes (1,2,8,11,12).

El contenido de aminoácidos en las leguminosas, es variable dependiendo de la especie, variedad, localidad y prácticas de manejo (2).

En la tabla IV se muestra el rango del contenido de algunos aminoácidos, en la mayoría de las especies y variedades de leguminosas (2).

En estudios más recientes (13) llevados a cabo por S.R. Chatterjee y Y.P. Abrol (1975), se encontró en variedades mejoradas de leguminosas, un contenido de metionina y triptofano más alto que los de la generalidad ( 0.70 a 1.82 y 0.54 a 0.75 g/100 g de proteína, respectivamente ) y un contenido de lisina de 5.57 a 7.27 g/100 g de proteína.

TABLA IV

Contenido de algunos aminoácidos en la mayor parte de las especies y variedades de leguminosas.

AMINOACIDO	RANGO g/g N	g/16 g N
Arginina	0.36 - 0.57	5.76 - 9.12
Histidina	0.08 - 0.21	1.28 - 3.36
Isoleucina	0.32 - 0.62	5.12 - 9.92
Leucina	0.20 - 0.68	3.20 - 10.88
Lisina	0.34 - 0.71	5.44 - 11.36
Metionina	0.03 - 0.11	0.48 - 1.76
Cistina	0.01 - 0.07	0.16 - 1.12
Fenilalanina	0.15 - 0.49	2.40 - 7.84
Treonina	0.16 - 0.31	2.56 - 4.96
Tirosina	0.06 - 0.24	0.96 - 3.84
Triptofano	0.01 - 0.07	0.16 - 1.12
Valina	0.24 - 0.49	3.90 - 7.84

**Minerales.** Las leguminosas son comparativamente deficientes en calcio, aunque considerablemente mas ricas que los cereales ( arroz 10 a 16 mg de calcio/100 g de muestra ). El mayor de los datos reportados es de 300 mg/100 g de muestra; la generalidad esta alrededor de los 100 mg/100 g de muestra. Sin embargo estos alimentos son una buena fuente de hierro, proporcionando de 2 a 10 mg/100 g de alimento (1,10).

**Vitaminas.** La mayor parte contienen cantidades pequeñas de carotenos y carotenoides, pero ellas contribuyen muy poco como precursores de Vitamina A y su contenido varía de 50 a 300 Unidades Internacionales de Vitamina A por 100 g de alimento. El contenido de Tiamina oscila entre 0.3 y 1.0 mg/100 de alimento con un promedio de 0.4 a 0.5 mg. Los datos representativos de Rivo flavina varían de 0.1 a 0.4 mcg/100 g de alimento; siendo una fuente abundante de Niacina, con un promedio de 2 mg/100 g de alimento. Existen pocas observaciones acerca de las otras vitaminas del grupo B.

Se encuentran casi desprovistas de Acido Ascórbico y como resultado de la prolongada cocción necesaria en la mayor parte de las leguminosas secas, elimina toda la Vitamina C que contiene.

**Grasa.** El contenido graso de las leguminosas no está en cantidades apreciables, alrededor del 2 %, exceptuando la soya y el cacahuete, las cuales son fuentes importantes de dicho nutriente. En general, las grasas de las leguminosas son ricas en -

ácidos grasos esenciales (1).

Carbohidratos. Contienen alrededor de un 60 % que en general se absorben y utilizan bien (1).

#### TOXICIDAD DE LAS LEGUMINOSAS

Siendo que las leguminosas juegan un papel importante en la alimentación humana, deben ser considerados los factores tóxicos, existiendo un gran número de ellos, unos son termolábiles y otros son termoestables, y de acuerdo a la toxicidad que representan en estado crudo, las leguminosas se han clasificado en tres grupos (14):

1.- Las que producen pérdida de peso y la muerte de los animales de experimentación en un lapso aproximado de 2 a 3 semanas (semillas de frijoles y gallinazos. Dolichos lablab).

2.- Las que producen un crecimiento moderado, que no obstante es mejor si se consumen en forma cocida (soya).

3.- Las que no resultan en diferencias de importancia en cuanto a crecimiento entre los animales, si ellas se utilizan en forma cruda o cocida (caupí, garbanzo y lentejas).

Entre los factores tóxicos o antinutricionales presentes en las leguminosas, los que se han estudiado son: inhibidores de tripsina, hemaglutininas, inhibidores de amilasa, otros inhibidores de proteasas, glucósidos cianogénicos, saponinas, alcaloides,

factores bociogénicos, factores que producen latirismo, favismo, flatulencia, etc. (1,2,15-20).

Sin embargo no debemos alarmarnos por el contenido de tóxicos en las leguminosas, pues en su mayoría se destruyen por cocción y además se han encontrado en los inhibidores de tripsina residuos de cistina (21), alto contenido de serina, ácido aspártico y alfa-cisteína; lo que indica un alto contenido en aminoácidos azufrados. En lo que respecta a hemaglutininas se han encontrado aminoácidos acídicos e hidrofílicos (22), en lenteja gran cantidad de ácido aspártico y residuos de treonina. En estudios sobre lectinas se encontraron grandes cantidades de aminoácidos básicos y ácidos que no contienen metionina y aproximadamente 5 residuos de cisteína / mol (23,24). Por eso con una cocción adecuada se eliminan los factores tóxicos como tales, quedando los aminoácidos antes mencionados.

Jaffé (17) observó que las leguminosas con actividad más alta de inhibidor de tripsina, fueron las que "in vivo" mejoraron más su digestibilidad por cocimiento. Por otro lado encontró que el frijol rojo cocido a 98°C durante 2 horas elimina totalmente los inhibidores de tripsina, hemaglutininas y casi totalmente inhibidores de amilasa (18).

L.G. Elias y col. (25) encontraron en leguminosas molidas que aún después de una cocción por un lapso de 45 minutos a 16 lb de presión y 121°C con previo remojo por 18 horas disminuye el inhibidor de tripsina únicamente de 31.9 TUI/ml a 25.3 TUI/ml en frijol negro (*Phaseolus vulgaris*); en caupí (*Vigna sinensis*) de -

6.6 a 5.8 TUI/ml y en el que hubo mayor disminución fue en el ---  
gandul (*Cajanus cajan*) de 20.9 TUI/ml a 5.9 TUI/ml. Jaffé (17) --  
encontró que en *Phaseolus* el valor disminuía hasta  $4.25 \text{ TI } 10^{-4}$  -  
Unidades/g.

Estos estudios comprueban que algunos de los factores -  
que influyen en la termolabilidad de los inhibidores de tripsina  
y hemaglutininas, dependen de la especie y lugar de cultivo de las  
leguminosas, al igual que las condiciones de cocción.

#### VALOR NUTRITIVO DEL FRIJOL COCIDO

Ha sido bastante estudiado que el valor nutritivo de -  
los frijoles, aumenta debido a la cocción (16,19,25-30). El grado  
de mejoramiento en el valor nutricional efectuado por el calenta-  
miento, depende de la temperatura, del tiempo de cocción y de las  
condiciones de humedad de la muestra (19). El tipo de cocción usa  
do varía significativamente de un autor a otro, y es muy difícil  
hacer las condiciones uniformes para comparar los resultados; por  
esta razón muchos autores concuerdan en que es recomendable un --  
tiempo de remojo antes de la cocción con lo que se provoca un ---  
ablandamiento de la leguminosa, siendo por consiguiente menos --  
drásticas las condiciones de cocción, debido a que se disminuye -  
el tiempo de calentamiento.

Un exceso de calentamiento disminuye la cantidad de li-  
sina disponible (29) pudiendo también afectar otros aminoácidos -

esenciales.

Para evaluar los daños ocasionados por calentamiento, - así como también la calidad de la proteína de las leguminosas se han empleado diversos métodos biológicos como Digestibilidad, Índice de Eficiencia Proteica (PER), Valor Biológico, Utilización - Neta de Proteína (NPU). Con tales pruebas se determina la capacidad de crecimiento y el equilibrio y recuperación de nitrógeno; - para lo cual se han empleado diversas especies de animales de experimentación como ratas, pollos y cerdos, ya que estos tienen las mismas necesidades de aminoácidos esenciales que el hombre, en el cual se han hecho pocas evaluaciones, por la dificultad de mantenerlo en las condiciones requeridas para las pruebas.

A continuación se dan las fórmulas para calcular los -- índices antes mencionados.

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{\text{Nitrógeno ingerido} - \text{Nitrógeno fecal}}{\text{Nitrógeno ingerido}}$$

$$\text{PER} = \frac{\text{Peso ganado}}{\text{Proteína ingerida}}$$

$$\text{Valor Biológico} = \frac{\text{Nitrógeno retenido}}{\text{Nitrógeno absorbido}} \times 100$$

Nitrógeno absorbido = Nitrógeno ingerido x coeficiente de digestibilidad

NPU = Nitrógeno absorbido x Valor Biológico de la proteína

De todas estas pruebas haremos especial énfasis en la - Digestibilidad, PER y Valor Biológico; esencialmente en pruebas - con *Phaseolus vulgaris*.

Digestibilidad. La verdadera digestibilidad de las leguminosas guisadas adecuadamente se encuentra entre el 85 y el 95%, siendo la de los frijoles ligeramente más pobre que la de los chícharos (1).

Se ha observado en estudios realizados sobre *Phaseolus vulgaris* que la digestibilidad es afectada por el tiempo de cocción (25,29), aunque con ligeras variaciones, incluso cuando son suplementadas con metionina (31, 32,33). Sin embargo es muy importante el tipo de cocción que se les dé, ya que éste si afecta la digestibilidad, pues según Jaffé (27), se deduce que la cocción - por 2 horas a 85°C de frijoles previamente remojados por 2 horas, resultó insuficiente para lograr la digestibilidad medida ----- "in vivo" e "in vitro" llegara a valores similares de las semillas cocidas en autoclave.

El punto mas importante a señalar en la digestibilidad de *Phaseolus* y en general de las leguminosas, es que existe una -

diferencia significativa entre el alimento crudo y el cocido, -- siendo mayor la digestibilidad de la leguminosa cocida.

Indice de Eficiencia Proteica (PER). El PER se basa en el aumento de peso de los animales jóvenes, a los que se haya dado una proteína de ensayo por espacio de 3 a 4 semanas, ordinaria mente a un nivel del 10%, es decir de tal manera que constituya el 10 % de peso seco en la dieta. Estos valores oscilan entre 0 y 4, hallándose la proteína de las leguminosas entre 0.5 y 1.5 y la soya entre 1.5 y 2.5 .

Es importante el PER, ya que éste nos indica que tan -- aprovechada va a ser la proteína por el animal; y se ha visto en todos los estudios realizados en las leguminosas que el PER au--- menta tanto por una buena cocción (25), como por la adición de -- aminoácidos, especialmente de metionina, pudiendo llegar en el -- frijol a valores tan elevados como los de caseína (31,32,34), que se utiliza como patrón.

Valor Biológico. El valor biológico representa la proteína que se retiene de la que se ha absorbido.

Existen muchas variaciones en el valor biológico de las leguminosas, aún en variedades de la misma especie. Estas variaciones son difíciles de explicar, debido a que hay muchos factores -- involucrados; sin embargo, es probable que el factor principal -- sea la relativa baja concentración de aminoácidos azufrados en la proteína. La calidad de la proteína puede ser afectada por otros

factores tales como procesamiento para consumo. En general, se -- considera una variación de 32 a 78 % de Valor Biológico (2).

## MEJORAMIENTO DEL VALOR NUTRICIONAL

Existen tres formas de mejorar el valor nutritivo de -- las leguminosas:

1.- Por suplementación con otros alimentos de origen ve getal. La suplementación se lleva a cabo entre dos o mas protef-- nas de tal manera que el valor nutricional de la mezcla resultan-- te sea mejor al de cada proteína por separado. Este fenómeno se -- observa muy bien entre proteína de leguminosa (deficiente en me-- tionina) y proteína de cereal (deficiente en lisina).

En este tipo de mejoramiento, debe tenerse cuidado de -- que los dos alimentos con que se realice la suplementación no -- sean deficientes en el mismo aminoácido, o de lo contrario se -- ejercerá una disminución en el valor nutritivo.

Esto ha sido estudiado ampliamente por diversos auto-- res (10,13,35,36). Se ha recomendado en el caso de maíz y frijol que la mejor suplementación es aquella en que tanto la leguminosa como el cereal, aporten cada uno el 50 % de proteína en la dieta, que corresponden aproximadamente al 30 % en peso del frijol y -- 70 % del peso en maíz (37).

Existen pocos estudios llevados a cabo en humanos, de -- la suplementación de leguminosa - cereal, algunos de ellos en --

niños (38, 39, 40).

2.- Por mejoramiento genético. Para este método es necesario tomar en cuenta muchos factores como son: estandarización de técnicas analíticas, eliminación de factores responsables de la pobre digestibilidad, mejoramiento del nivel proteico, aumento de la producción, estudios de leguminosas no comestibles (28,41). Aunque ya se han realizado algunos estudios, debido a que involucra demasiados factores, este tipo de mejoramiento es a largo -- plazo.

3.- Agregando aminoácidos deficientes. En este caso se adiciona metionina que es el aminoácido deficiente de las leguminosas. El problema persiste en la estandarización de la cantidad añadida, que varía de 0.1 a 0.6 %.

Russell y col. (42) estudiaron la adición de metionina a diferentes niveles, encontrando que la adición de 0.1 % en la dieta, mejora el PER de *Cicer arietinum*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus vulgaris* y *Pisum sativum* y que al 0.6 % aportaba sólo pequeñas mejoras.

Bressani y col. (31) encontraron que el valor nutricional de las leguminosas se incrementaba al agregar 0.2 % de metionina en la dieta.

Otros autores han sugerido la adición de metionina al 0.3 % (16,43,44), con lo cual se aumenta el consumo de alimento, retención de nitrógeno y ganancia de peso en ratas. Una excepción es la del gandúl (*Cajanus cajan e indicus*), a la cual es necesario añadir además de metionina, triptofano, que son los amino

ácidos igualmente deficientes en esta leguminosa (11,32,45).

La efectividad de los aminoácidos añadidos, aparentemente consiste en su habilidad para sintetizar las proteínas endógenas secretadas por el páncreas y perdidas en las heces (26).

Bricker y Mitchell (46) han encontrado que las necesidades del hombre con respecto a metionina y cistina son considerablemente más bajas que las de la rata, y las proteínas que tienen esta deficiencia suelen tener un valor biológico más alto en el hombre.

Stewart G. Tuttle y col. (47) encontraron que las necesidades de metionina y lisina en el hombre viejo (entre 50 y 60 -- años de edad), parecen ser mayores que en el hombre más joven.

I. Nakagawa y col. (48) encontraron que las necesidades mínimas diarias en niños de 11 años es de 0.8 g de metionina -- (27mg por Kg de peso).

La tabla V es una recopilación hecha por G.R.Jansen (45), en la cual se presentan datos de suplementación de leguminosas -- cocidas.

Estudios más recientes (1975) realizados por Bressani y Elfas (32), se muestran en la tabla VI.

Como puede observarse en todos los casos en las dos tablas se obtuvo una mayor ganancia en peso y se elevó el Índice de Eficiencia Proteica cuando la leguminosa se suplementó con metionina y en el caso del *Cajanus cajan* ese aumento fue significativo al suplementarse con metionina y triptófano.

En resumen, todas las leguminosas estudiadas cuando ---

TABLA V

SUPLEMENTACION DE AMINOACIDOS EN LEGUMINOSAS COCIDAS  
ESTUDIOS EN RATAS

LEGUMINOSA	Nombre Científico	Nivel de Proteína	Peso Ganado g/día	REP(1) (28 días)	Ref.
Frijol Pinto			0.3	-	
F.P. + 0.3% DL-metionina	Ph. vulgaris	10	1.9	-	(49)
Frijol Navy			1.5	1.9	
F.N. + DL-metionina (2)	Ph. vulgaris	10	3.4	3.1	(26)
Frijol Negro			1.9	1.2	
F.N. + 0.3% DL-metionina	Ph. vulgaris	10	4.5	2.4	(31)
Frijol Kidney			0.0	-	
F.K. + 0.3% DL-metionina	Ph. vulgaris	10	2.8	-	(11)
Frijol Mungo			0.5	-	
F.M. + 0.3% DL-metionina	Ph. aureus	10	2.3	-	(11)
Frijol Adzuki			1.0	-	
F.A. + 0.3% DL-metionina	Ph. angularis	10	1.8	-	(11)
Frijol Lima			-0.1	-0.2	
F.L. + 0.1% DL-metionina	Ph. lunatus	10	1.4	1.7	(42)
Frijol Lima			0.4	-	
F.L. + 0.2% DL-metionina	Ph. lunatus	10	2.7	-	(49)

LEGUMINOSA	Nombre Científico	Nivel de Proteína	Peso Ganado g/día	REP(1) (28 días)	Ref.
Frijol Hyacinth		10	-0.3	-	
F.H. + 0.3% DL-metionina	Dolichos lablab	10	4.4	-	
Chícharo Verde		10	0.3	-	
Ch.V. + 0.1% DL-metionina	Pisum sativum	10	1.7	-	(42)
Chícharo Sureño		10	0.7	-	
Ch.S. + 0.2% DL-metionina	Pisum sativum	10	1.7	-	(49)
Chícharo Verde		10	0.0	-	
Ch.V. + 0.3% DL-metionina	Pisum sativum	10	1.2	-	(11)
Chícharo del Campo		10	0.6	-	
Ch.C. + 0.3% DL-metionina	Pisum sativum	10	1.9	-	(50)
Chícharo del Campo		10	0.3	-	
Ch.C. + 0.6% DL-metionina	Pisum sativum	10	2.1	-	(51)
Lenteja		10	-0.1	-	
L. + 0.3% DL-metionina	Lens esculenta	10	0.5	-	(11)
Lenteja		10	-	0.9	
L. + 0.6% DL-metionina	Lens esculenta	10	-	2.5	(52)
Caupí		10	2.2	-	
C. + 0.3% DL-metionina	Vigna sinesis	10	2.9	-	(53)

LEGUMINOSA	Nombre Científico	Nivel de Proteína	Peso Ganado g/día	REP(1) (28 días)	Ref.
Garbanzo		10	1.2	-	
G. + 0.1% DL-metionina	Cicer arietinum	10	2.5	-	(42)
Garbanzo		10	1.3	-	
G. + 0.3% DL-metionina	Cicer arietinum	10	2.9	-	(11)
Gandul		10	1.2	1.8	
G. + DL-metionina + L-triptofano (3)	Cajanus cajan	10	3.6	3.2	(54)
Gandul		10	0.2	-	
G. + 0.3% DL-metionina + 0.8% L-triptofano	Cajanus indicus	10	3.1	-	(11)

- 1.- Relación de Eficiencia Proteica =  $\text{Peso ganado en gramos} / \text{gramos de proteína consumida}$ .
- 2.- Adición de metionina a nivel del Patrón de F.A.O. de 1957 (4.2g /100g proteína).
- 3.- Adición de metionina y triptofano a niveles de 2.8 y 1.5g /16g de N respectivamente.

TABLA VI

AUMENTO DE PESO Y PER EN RATAS ALIMENTADAS CON DIVERSAS \*  
 LEGUMINOSAS DE GRANO SUPLEMENTADAS CON 0.2% DE METIONINA

LEGUMINOSA DE GRANO	Nombre Científico	Nivel de proteína en la dieta g/100g	PER	Aumento promedio de peso (g)
Frijol Negro		10	1.63	54
F.N. + metionina	Ph. vulgaris	10	2.84	115
Frijol Blanco		10	0.94	23
F.B. + metionina	Ph. vulgaris	10	2.67	116
Frijol Rojo		10	0.70	13
F.R. + metionina	Ph. vulgaris	10	2.33	92
Caupí		10	1.79	60
C. + metionina	Vigna sinesis	10	2.90	122
Gandul		10	1.13	29
G. + metionina		10	1.51	41
G. + 0.1% triptofano		10	1.29	37
G. + metionina + 0.1% triptofano	Cajanus cajan	10	2.22	97

\* Periodo experimental 28 días.

son suplementadas con metionina ( en el caso del Phaseolus con adición de 0.1 a 0.3 % ) o en su caso con metionina y triptofano, - fueron capaces de mantener adecuadamente el crecimiento de ratas, al proporcionarles un nivel de proteína del 10 % en la dieta. En vista de que es menos intensa la necesidad de aminoácidos esenciales para el humano, los resultados sugieren que la adición de aminoácidos a leguminosas, sería una fuente adecuada de proteína para humanos, especialmente aquellas que contienen más del 20 % de proteína.

#### SINTESIS, PRODUCCION Y COSTOS DE METIONINA

La DL-metionina es sintetizada de acroleína, metil mercaptano y alguna fuente eficaz de cianuro y de iones amonio. A diferencia de la lisina, las formas D y L de la metionina pueden -- ser utilizadas en el cuerpo; por esto la resolución no es necesaria. Puede crearse una gran demanda para lisina, metionina y otros aminoácidos, proponiendo la suplementación de la dieta en ciertas regiones que consuman proteínas deficientes. Las necesidades de - producción están al alcance de la capacidad de la industria química.

Los países altamente industrializados del mundo, se ocupan en gran magnitud de la producción de aminoácidos esenciales. En el presente solo la lisina y metionina son manufacturadas en - cantidades comerciales, y de los dos, la metionina es producida -

en grandes cantidades.

En México sólo existe una planta sintetizadora de metionina, cuyo promedio de producción mensual es alrededor de las 200 toneladas con un costo de \$ 86.83 por kilogramo, siendo este relativamente barato, pudiéndose disminuir si la producción aumenta, pero esto sólo se lograría con una mayor demanda y con un mayor número de industrias productoras de metionina.

La producción de lisina en gran volumen puede tardar por la falta de gran demanda en el mercado; y la demanda en turno, -- puede resultar baja en su desarrollo porque el precio es relativamente alto (55).

**Métodos de Síntesis.** Varias rutas sintéticas son eficaces para producir aminoácidos, pero la ruta comunmente usada - en la manufactura de metionina y lisina por síntesis química, involucra la modificación de Bucherer de la síntesis de Strecker. En esta ruta, un aldehído en reacción con  $(\text{NH}_4)^+$  y  $(\text{CN})^-$ , produce una hidantoína, la cual por hidrólisis produce el aminoácido. Las últimas materias requeridas son petróleo y/o carbón, sales orgánicas, azufre y nitrógeno atmosférico. Las cantidades de materias primas que deben ser requeridas para la gran producción y que pueden ser previstas, serían sólo una pequeña fracción de las cantidades ahora utilizadas para otros propósitos (55).

**Síntesis.** La presente síntesis comercial de metionina empieza con acroleína (a). Los siguientes pasos son la reacción

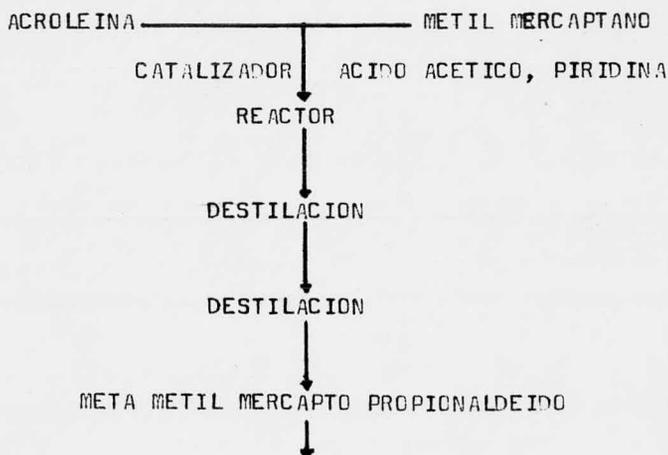


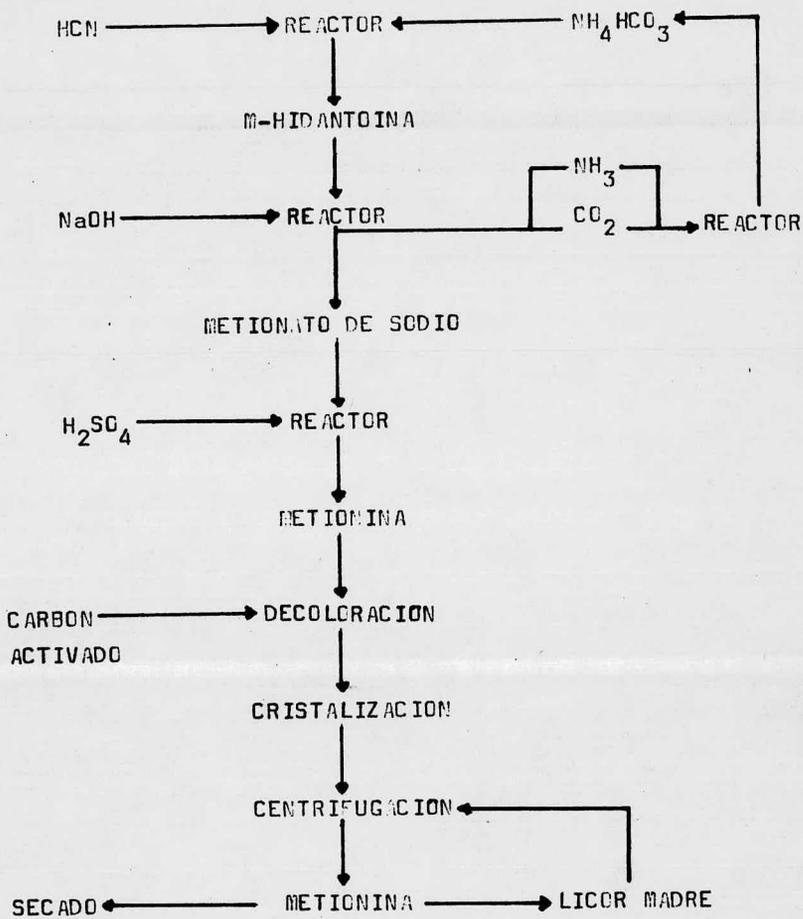
La acroleína requerida en ésta síntesis puede ser hecha por oxidación del propileno obtenido en la refinación del petróleo.

El metil mercaptano puede ser obtenido por reacción del metanol y ácido sulfhídrico, y el ácido cianhídrico por reacción de amoníaco y metano.

Si el hidroxilo del 2-hidroxi-4-(metil tio)-butironitrilo no es sustituido por un grupo amino, el nitrilo producido por hidrólisis, da el hidroxianálogo de la metionina. Este producto - en la forma de sal de calcio, es manufacturado en cantidades suficientes para su uso en alimentos balanceados para animales, el cual satisface las mismas funciones nutricionales que la metionina (55,56).

En México el camino seguido para la producción de metionina es el del ácido cianhídrico, pero modificado. El diagrama de flujo es el siguiente:





## IV

### MATERIALES Y METODOS

#### 1. Materiales

Se estudiaron dos muestras de frijol: frijol negro Veracruz (*Phaseolus vulgaris*) y alubia (*Phaseolus vulgaris*). El primero se obtuvo en una tienda expendedora de granos del Distrito Federal y el segundo en un supermercado.

##### 1.1 Tratamiento de las muestras

Los dos frijoles se sometieron inicialmente a un tratamiento de limpieza manual. Un lote de cada frijol se molió en un molino Arthur H. Tomas a 20 mallas, y en forma de harina se hicieron las determinaciones químicas.

Muestras cocidas. El resto de los lotes se sometieron a cocimiento en una olla de peltre a presión atmosférica, determinando en primer lugar el tiempo de su total cocción, teniendo siempre cuidado de que el nivel del agua de cocción sobrepasara a las muestras.

Se hicieron 8 lotes de un kilo, y cada uno por separado se sometió a cocción, adicionando a 6 de ellos metionina, en la forma que a continuación se indica.

1.- Frijol cocido y secado con caldo de cocción, sin --

metionina.

2.- Frijol cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.

3.- Frijol cocido y secado con caldo de cocción, agregando sal y metionina al inicio de ésta.

4.- Frijol cocido y secado sin caldo de cocción, agregando sal y metionina al inicio de ésta.

5.- Frijol cocido y secado con caldo de cocción, agregando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.

6.- Frijol cocido y secado sin caldo de cocción, agregando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.

7.- Frijol cocido y secado con caldo de cocción agregando sal y metionina después del cocimiento total.

8.- Frijol cocido y secado sin caldo de cocción, agregando sal y metionina después del cocimiento total.

Tanto al frijol negro como a la alubia se le dieron los tratamientos antes mencionados, adicionando metionina a un nivel de 0.6% para que al preparar la dieta, quedara entre 0.2 y 0.3% ; la sal adicionada fue del 4%, cantidad que fué seleccionada de modo que quedara en un nivel óptimo de sabor.

El secado de los granos se realizó a una temperatura de 60 - 70°C durante 18 hs. sobre charolas de aluminio. El caldo se secó junto con los frijoles en las mismas charolas. Las muestras cocidas y secadas con caldo y sin caldo se molieron en el mismo molino que las crudas, y las harinas se usaron para las determinaciones químicas y biológicas.

## 2. Métodos

### 2.1 Químicos

2.1.1 Análisis proximal. Se llevó a cabo siguiendo los métodos descritos por el A.O.A.C. (57).

- Humedad
- Cenizas
- Proteína cruda
- Grasa cruda
- Fibra cruda

2.1.2 Análisis de aminoácidos.

La determinación del contenido de aminoácidos se realizó por hidrólisis ácida y se analizaron en un autoanalizador de aminoácidos Perkin - Elmer modelo KLA-5 (58).

2.1.3 Cuenta química.

Con los resultados obtenidos por el análisis de aminoácidos se calculó la cuenta química de la siguiente forma:

$$X = \frac{\text{gramos de aminoácido esencial del patrón}}{\text{gramos de aminoácidos esenciales del patrón}}$$

$$Y = \frac{\text{gramos de aminoácido esencial del problema}}{\text{gramos de aminoácidos esenciales del problema}}$$

$$\frac{Y}{X} \times 100 = \text{Cuenta química}$$

El aminoácido que muestre el porcentaje menor se denominna aminoácido limitante y éste da la cuenta química.

El patrón utilizado fué la proteína de huevo entero (59)

#### 2.1.4 Digestibilidad in vitro.

Esta determinación se realizó siguiendo la técnica de Oke y col. (60).

#### 2.1.5 Determinación de triptofano.

El método desarrollado es el de Lombard y Lange (61) -- con algunas modificaciones.

#### Fundamento.

Se basa en la hidrólisis enzimática de las muestras, -- con papaína, y la determinación colorimétrica del triptofano al -- reaccionar con p-dimetilamino benzaldehído.

#### Procedimiento.

Se pesan alrededor de 1.2 g de muestra y se pasan a cada uno de los matraces de 100 ml, uno de los cuales se marca, ya que se le agregan 4 ml de solución estandar de triptofano de 1 -- mg/ml (estandar interno).

Se les adiciona 10 ml de solución enzimática de papaína al 2%, 60 ml de solución buffer de fosfatos 0.4 M a pH 7.95, y --

0.5 ml de solución de NaCN al 5%, se agitan. Se meten a la estufa con temperatura graduada a 56°C de 18 a 20 horas. Se dejan enfriar, se añoran a 100 ml con agua destilada, se filtran o centrifugan, se toma una alícuota de 5 ml del filtrado o sobrenadante, se pasa a un tubo y se le agregan 5 ml de solución de KOH 0.1 N y 3 ml de  $\text{CCl}_4$ ; se agitan bien y se centrifugan a 3000 r.p.m. durante 15 minutos.

Se marcan 3 tubos, uno de los cuales será el blanco. A cada tubo se le adiciona 1 ml del sobrenadante ( incluso al blanco ). Al tubo del blanco se le adiciona 1 ml de agua destilada. A continuación a los dos tubos restantes se adiciona 1 ml de solución de p-dietilamino benzaldehído al 2.5% en ácido sulfúrico al 5%. A los tres tubos se adicionan 5 ml de HCl concentrado, se agitan y se dejan reposar durante 15 minutos en la oscuridad. Se les adicionan 0.4 ml de solución de  $\text{NaNO}_2$  al 0.2% se agitan bien y se dejan en reposo por unos 15 minutos para el desarrollo del color, siendo éste azul. La intensidad del color se lee a 590 nm en un fotocolorímetro. Al mismo tiempo se corre una curva estándar de triptofano con una concentración de 10 - 100  $\mu\text{g}$ . El color es estable cerca de una hora.

#### Cálculos:

(X) g de triptofano en 1.2 g de muestra pesada =  
Concentración en  $\mu\text{g}$  leídos en la curva x Factor  
de dilución.

$$(Y) \text{ g de tript.} / 100 \text{ g de muestra} = \frac{X \times 100}{1.2}$$

$$(Z) \text{ g de tript.} / 100 \text{ g de proteína} = \frac{Y \times 100}{\% \text{ de prot.}}$$

#### 2.1.6 Determinación de lisina disponible.

El método usado es una recopilación de 3 autores, con algunas modificaciones. (61,62,63).

#### Material.

Balanza analítica

Baño de aceite

Matraces aforados de 100 ml

Matraces aforados de 250 ml

Parrilla eléctrica

Pipetas graduadas

Refrigerantes

Vasos de precipitado de 50 ml

Embudos de separación de 125 ml

Espectrofotómetro Coleman Jr.

Potenciómetro Beckman de escala expandida.

#### Reactivos.

1)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 8% (p/v)

2) Fluoro-2,4-dinitrobenceno (FDNB) al 2.5% en etanol (v/v). Este reactivo debe ser preparado al momento de la determinación. Debe mantenerse alejado de la

piel.

- 3) Acido clorhídrico 8.1 N
- 4) Eter etílico, reactivo
- 5) Hidróxido de sodio 2N
- 6) Buffer (pH 8.5) 8%,  $\text{NaHCO}_3$  8% p/v -  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  8% p/v, --  
19:1 ajustado con NaOH o HCl si se requiere.
- 7) Metoxi-carbonil clorhidrato (metil cloroformiato)
- 8) Acido clorhídrico, grado reactivo
- 9) Etanol absoluto, reactivo
- 10) Solución de fenolftaleína

#### Fundamento.

El método depende de la reacción de fluorodinitrobenzenceno (FDNB) con el grupo  $\text{--NH}_2$  de las unidades de lisina en proteínas de alimentos; y la determinación colorimétrica de la  $\text{--DNP}$ -lisina obtenida por subsecuente hidrólisis ácida.

#### Procedimiento.

Preparación del derivado.- Se suspende una cantidad de la muestra en una solución de carbonato de sodio (10 ml) al 8% -- con agitación suave y se deja reposar 10 minutos en un matraz aforado de 100 ml. Se pesan aproximadamente 0.5 g de muestra con -- 30 - 50% de proteína.

Durante este tiempo el reactivo se prepara de la siguiente manera: 0.3 ml de FDNB se solubilizan en 11.7 ml de etanol -- (quedando el FDNB al 2.5%); los 12 ml se adicionan a la muestra y

se agita suavemente durante 2 horas.

Hidrólisis de la  $\epsilon$ -DNP-lisina.- Al cabo de las 2 horas se evapora el etanol, y a la muestra se le adicionan 50 ml de HCl 6.1 N y se hierve a reflujo por espacio de 16 horas en un baño de aceite a temperatura de 130 - 150<sup>o</sup> C.

El hidrolizado se enfría rápidamente en un recipiente con hielo, se filtra, y el filtrado se lava constantemente con agua destilada, el filtrado y las aguas de lavado se llevan a un volúmen de 250 ml.

Determinación de  $\epsilon$ -DNP-lisina.- Se toma una alícuota de 10 ml del hidrolizado y se coloca en un embudo de separación, se lava enérgicamente con éter varias veces, hasta que la capa etérea no sea colorida, el exceso de éter se evapora en un baño maría.

De esta manera teniendo el derivado libre de exceso del reactivo, se toman 3 alícuotas de 2 ml cada una.

1a. alícuota.- Los 2 ml se llevan a un volúmen de 10 ml con agua destilada y se le asigna el número 1.

2a. alícuota.- Igual que en el paso anterior el volúmen final son 10 ml, se agregan 2 gotas de fenolftaleína y se titula con NaOH 2 N, se anota la cantidad de ml utilizados, y se descarta esta muestra.

3a. alícuota.- Se agrega igual cantidad de NaOH que para la 2a. alícuota, se ajusta el pH en un rango de 8.2 a 9.6 con solución amortiguadora de NaHCO<sub>3</sub> al 8% y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 8% de pH 8.5 (aprox. 2 ml) utilizando para ello un potenciómetro Beckman. A -

partir de este momento debe continuarse sin pausa, ya que los ---  
DNP-compuestos son menos estables en solución alcalina. A conti-  
nuación adicionar 0.05 ml de etil cloroformiato y se deja repon-  
sar 10 minutos.

Se adicionan 0.75 ml de HCl concentrado, teniendo cuida-  
do de que no se produzca una excesiva efervescencia. Se pasa a un  
embudo de separación, se hacen lavados con 10 ml de éter cada vez,  
hasta que el éter no tenga color; tres lavados es suficiente, los  
restos de éter se evaporan utilizando un baño maría, a esta alfi-  
cuota se le llena l'.

Finalmente se lee la densidad óptica en los tubos l y l'  
utilizando para ello un espectrofotómetro Coleman Jr. a una longi-  
tud de onda de 435 nm.

Cálculos:

$$\mu \text{ moles} = \frac{\text{D.O. } M_1 - \text{D.O. } M_{1'}}{\text{D.O. } E} \times C_E \times \text{F.D.} \times 100$$

P.M.

D.O.  $M_1$  = Densidad óptica de la muestra l

D.O.  $M_{1'}$  = Densidad óptica de la muestra l'

D.O. E = Densidad óptica del estándar

$C_E$  = Concentración del estándar

F.D. = Factor de dilución

P.M. = Peso de la muestra

Para los cálculos anteriores se preparó una curva estandar de la siguiente manera:

#### Curva Estandar.

Se pesan 17.7 mg de  $\epsilon$ -dinitrofenil-lisina.HCl y se añoran a 100 ml con agua destilada, de esta solución se toma una alícuota de 10 ml y se lleva a un volúmen de 100 ml. De esta solución que tiene una concentración de 0.005  $\mu$ moles por mililitro, se toman 1 ml, 2 ml, 3 ml hasta 10 ml con agua destilada. Las lecturas se hacen a 435 nm.

## 2.2 Biológicos.

### 2.2.1 Preparación de las dietas.

Para preparar las dietas se utilizó el frijol cocido, seco y molido como ya se describió anteriormente. Este material suministró la fuente de proteína. Se elaboraron dietas conteniendo 10% de proteína; además de una dieta control de caseína. La fórmula empleada para la preparación es la siguiente:

	%
Proteína .....	10.0
Sacarosa .....	20.1
Glucosa .....	19.0
Dextrina .....	25.0
Manteca vegetal .....	8.0
Aceite vegetal .....	6.0

Mezcla de sales .....	4.0
Mezcla de vitaminas .....	2.0
Celulosa C.S.P. 100% .....	5.9

Una vez elaboradas las dietas, se analizó su contenido de nitrógeno.

### 2.2.2 Relación de Eficiencia Proteica y Coeficiente de Digestibilidad.

Para este ensayo se utilizaron ratas recién destetadas (entre 21 y 23 días de nacidas), de la raza Sprague Dowley del Bioterio de Investigación Científica del Centro Médico Nacional. Cada grupo estaba integrado por 8 ratas, fueran machos o hembras, cada una colocada en una jaula individual con comida y agua "ad libitum".

Las ratas y el alimento ingerido se pesaron 2 veces por semana, durante 3 semanas, para la determinación de la Relación de Eficiencia Proteica.

El Coeficiente de Digestibilidad se determinó durante la 3a. semana del experimento, recolectando las heces y midiendo su contenido de nitrógeno, pesando también el alimento ingerido durante estos 7 días.

Cálculos:

$$R.E.P. = \frac{\text{Peso ganado}}{\text{Proteína ingerida}}$$

$$\% \text{ Digestibilidad} = \frac{N_i - N_f}{N_i}$$

$N_i$  = Nitrógeno ingerido

$N_f$  = Nitrógeno fecal.

Los aminogramas del frijol negro y alubia se presentaron en la tabla IX. Se encontró prácticamente la misma composición de aminoácidos en la proteína de los frijoles, la variación más grande se encontró en leucina cuyo valor fue de 8.63 g/100 g de proteína en el frijol negro y 12.7 g/100 g de proteína en la alubia. Ambos tienen muy poca metionina cuando no son suplementados, la adición de este aminoácido eleva los valores de 0.906 a 2.746 g/100 g de proteína en el frijol negro y de 0.960 a 3.381 g/100 g de proteína en alubia.

En la tabla X se resume la cuenta química de algunos aminoácidos del frijol negro sometido a los diversos tratamientos. La cuenta química de los aminoácidos azufrados varía de 30 aproximadamente sin suplementar, hasta un promedio de 56, suplementados, excepto el frijol negro cocido y secado sin caldo, al que se le agregó sal y metionina después de la cocción cuya cuenta química subió hasta 86.7, por lo cual en este caso particular el limitante pasó a ser la isoleucina con 70.3 de cuenta química. Los tres aminoácidos más deficientes fueron en todos los casos los azufrados, la isoleucina y la valina, y los más excesivos fueron: fenilalanina, triptofano, leucina y lisina en orden decreciente.

En la tabla XI se muestran los resultados de la cuenta química y algunos aminoácidos de la alubia. Igual que en el caso anterior, se notó que los aminoácidos azufrados son los limitantes, en este frijol sin y con suplemento de metionina, excepto en dos casos en que lo fue el triptofano. La cuenta química del frijol sin suplementar es alrededor de 27, ligeramente inferior al -

del frijol negro. La adición de metionina incrementó la cuenta de la alubia desde un rango de 52 para la alubia cocida y secada sin caldo, agregando la metionina al inicio de la cocción, hasta 76.6 en el frijol que se le añadió la metionina después de cocido y -- que se cocó sin caldo. Los aminoácidos más deficientes fueron los azufrados, triptofano, isoleucina y valina; y los más excesivos -- o abundantes fueron la leucina y la fenilalanina.

Los resultados de la determinación de lisina disponible se muestran en la tabla XII, encontrándose un valor de 10.331 g y 9.18 g de lisina disponible/100 g de proteína para el frijol negro y la alubia crudos respectivamente. En general se observó una disminución de lisina disponible con la cocción, que se acentúa -- en las muestras que han sido secadas con caldo. Por ejemplo en el frijol negro y la alubia que se secaron con caldo sin suplementar se obtuvieron 7.09 y 5.97 g/100 g de proteína respectivamente que fueron los más bajos de todos los tratamientos.

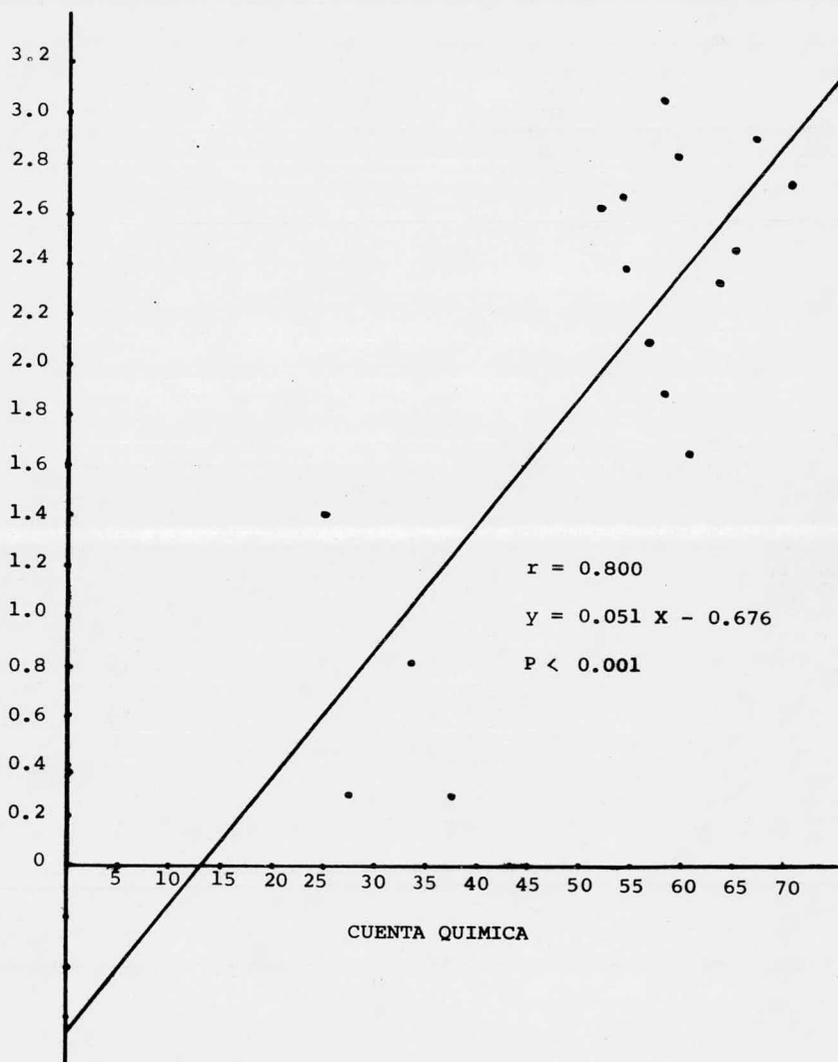
En las tablas XIII y XIV, se presentan los resultados -- de la digestibilidad "in vitro" e "in vivo" de ambas leguminosas. Con respecto al frijol negro, tanto la digestibilidad "in vitro" como "in vivo" oscilan alrededor del 60%, no mostrando gran variación entre ambos métodos. En la alubia la digestibilidad "in vitro" es alrededor del 65%, pero la digestibilidad "in vivo" es -- todavía más elevada, aproximadamente 78%. La digestibilidad "in -- vitro" de las muestras crudas fue mayor, en tanto que "in vivo" -- no se realizó por la toxicidad de las muestras estudiadas.

En la tabla XV se presentan los resultados de la rela--

ción de eficiencia proteica (REP), en los cuatro estudios biológicos encontrándose que la caseína varía de  $2.49 \pm 0.35$  en el primer estudio, hasta  $3.05 \pm 0.43$  en el cuarto; por ello para poder comparar los resultados se estandarizó el valor de caseína a 2.5 y todos los resultados de los frijoles se ajustaron a ese valor, como se muestra en la tabla XVI. Se encontró en estos resultados que el frijol negro sin suplementar da los valores más bajos con un REP de 0.28 para el secado con caldo y 0.29 para el secado sin caldo. En tanto que la alubia sin suplementar da unos valores de 0.79 secado con caldo y 1.36 para el secado sin caldo. En general se encontró para los frijoles valores más altos de REP cuando se secaban sin el caldo de cocción, que cuando se incluía éste en el secado.

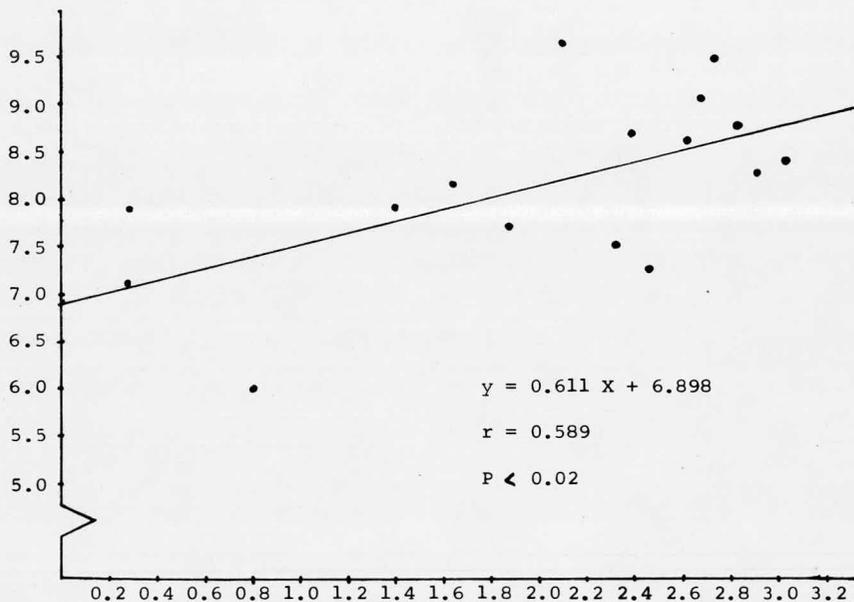
**FIGURA 1**  
**CURVA DE REGRESION ENTRE**  
**RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA Y**  
**CUENTA QUIMICA**

R.E.P.



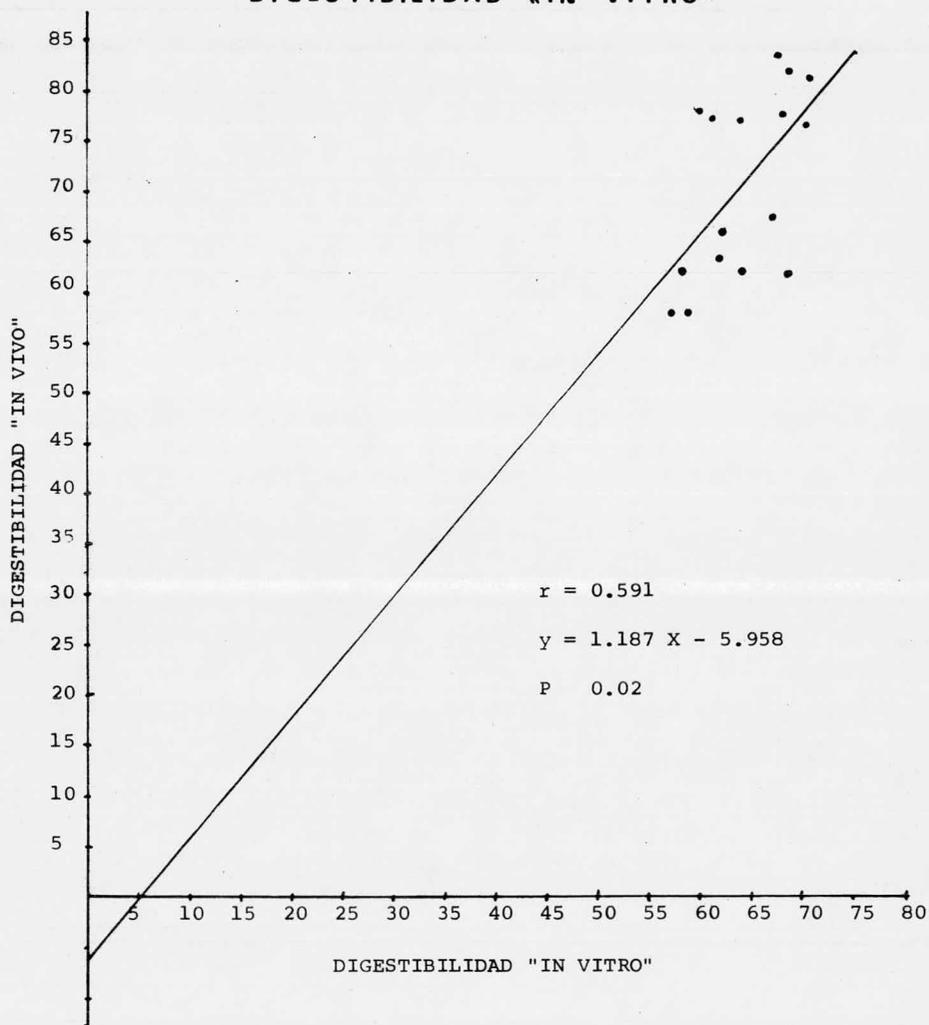
**FIGURA 2**  
**CURVA DE REGRESION ENTRE LISINA**  
**DISPONIBLE Y RELACION DE EFICIENCIA**  
**PROTEICA**

LISINA  
DISPONIBLE



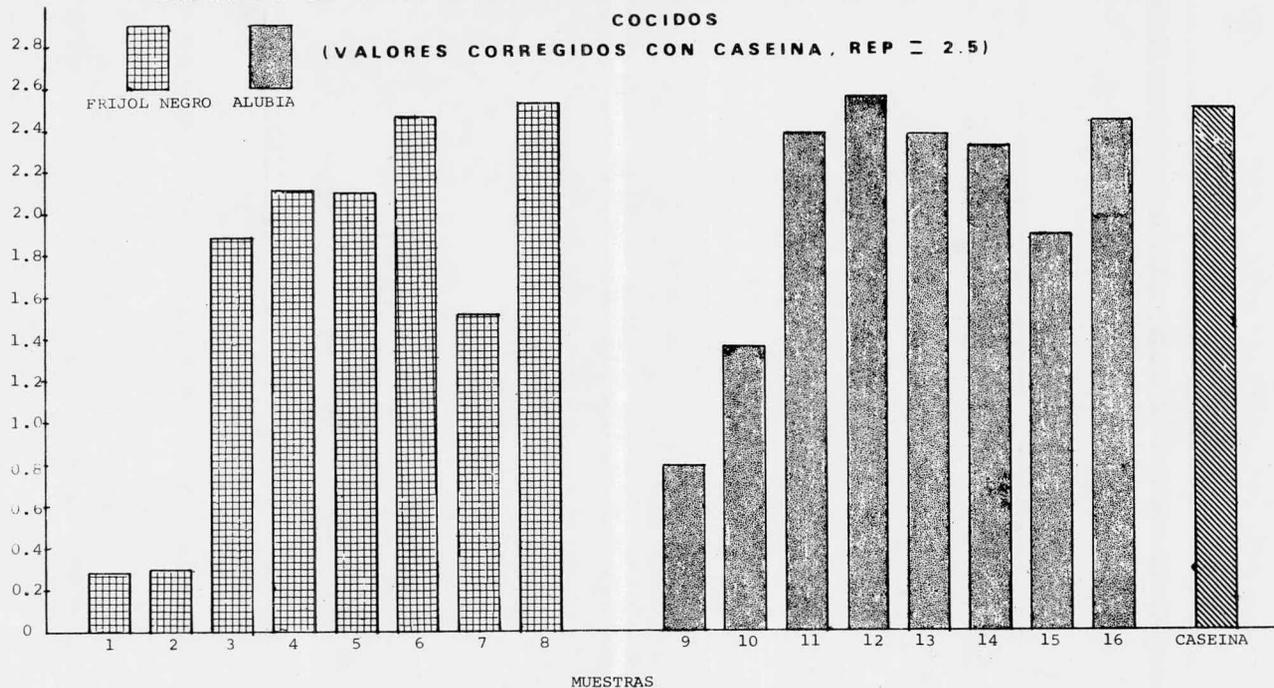
RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA

**FIGURA 3**  
**CURVA DE REGRESION ENTRE**  
**DIGESTIBILIDAD «IN VIVO» Y**  
**DIGESTIBILIDAD «IN VITRO»**



RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA DEL FRIJOL NEGRO Y DE LA ALUBIA  
COCIDOS

(VALORES CORREGIDOS CON CASEINA, REP = 2.5)



- 1 y 9 SIN SUPLEMENTAR Y SECADOS CON CALDO  
 2 y 10 SIN SUPLEMENTAR Y SECADOS SIN CALDO  
 3 y 11 SUPLEMENTADO CON METIONINA AL INICIO DE LA COCCION, SECADO CON CALDO  
 4 y 12 SUPLEMENTADO CON METIONINA AL INICIO DE LA COCCION, SECADO SIN CALDO  
 5 y 13 SUPLEMENTADO CON METIONINA 30 MIN. ANTES DE LA COCCION TOTAL, SECADO CON CALDO  
 6 y 14 SUPLEMENTADO CON METIONINA 30 MIN. ANTES DE LA COCCION TOTAL, SECADO SIN CALDO  
 7 y 15 SUPLEMENTADO CON METIONINA DESPUES DE LA COCCION, SECADO CON CALDO  
 8 y 16 SUPLEMENTADO CON METIONINA DESPUES DE LA COCCION, SECADO SIN CALDO

TABLA VII  
 ANALISIS PROXIMAL DE FRIJOL NEGRO (PHASEOLUS VULGARIS)  
 (GRAMOS/100 GRAMOS DE MUESTRA)

MUESTRAS	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINA (N x 6.25)	FIBRA CRUDA	GRASA CRUDA	CARBOHIDRATOS (POR DIFERENCIA)
Crudo	12.9	3.9	22.9	5.2	1.7	53.4
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	5.4	4.5	23.8	4.8	2.2	59.3
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	4.2	3.4	26.0	5.6	2.3	58.5
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	6.2	7.8	22.0	4.4	2.2	57.4
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	9.2	6.0	22.8	5.5	2.4	54.1
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	1.4	8.2	22.4	3.2	1.8	63.0
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	3.7	5.9	23.0	5.3	1.6	60.5

## CONTINUACION TABLA VII

---

MUESTRAS	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINA (N x 6.25)	FIBRA CRUDA	GRASA CRUDA	CARBOHIDRATOS (POR DIFERENCIA)
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del coci- miento total.	2.0	8.3	22.3	2.4	1.8	63.2
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del coci- miento total.	5.8	6.9	22.8	4.4	1.7	58.4

---

TABLA VIII  
ANALISIS PROXIMAL DE ALUBIA (PHASEOLUS VULGARIS)  
(GRAMOS/100 GRAMOS DE MUESTRA)

MUESTRAS	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINA (N x 6.25)	FIBRA CRUDA	GRASA CRUDA	CARBOHIDRATOS (POR DIFERENCIA)
Crudo	9.3	3.8	23.5	4.0	1.5	57.9
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	2.0	4.3	24.0	4.1	1.6	64.0
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	2.7	3.6	23.4	4.6	1.7	64.0
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	3.9	6.7	23.0	3.8	1.6	61.0
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	2.3	7.1	23.0	4.7	1.5	61.4
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	2.9	7.9	23.1	4.6	1.5	60.0
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	3.4	6.7	23.3	5.0	1.5	60.0

## CONTINUACION TABLA VIII

---

<u>MUESTRAS</u>	<u>HUMEDAD</u>	<u>CENIZAS</u>	<u>PROTEINA</u> <u>(N x 6.25)</u>	<u>FIBRA</u> <u>CRUDA</u>	<u>GRASA</u> <u>CRUDA</u>	<u>CARBOHIDRATOS</u> <u>(POR DIFERENCIA)</u>
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina despues del coci-- miento total.	1.6	8.6	24.1	4.2	1.6	59.9
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del coci-- miento total.	2.8	8.8	23.1	4.7	1.5	59.1

---

TABLA IX

AMINOGRAMA DE FRIJOL NEGRO Y ALUBIA  
 (g A.A./100 g de proteína)  
 Resultado promedio de 9 aminogramas

AMINOACIDO	FRIJOL NEGRO	ALUBIA
Tirosina	3.528 ± 1.50	2.582 ± 0.61
Fenilalanina	5.812 ± 1.38	6.382 ± 0.79
Lisina	7.102 ± 1.29	8.044 ± 1.73
Histidina	1.883 ± 0.22	3.155 ± 0.77
Arginina	5.503 ± 0.65	7.219 ± 1.88
Ac. Aspártico	13.820 ± 1.40	12.108 ± 2.89
Ac. Glutámico	15.308 ± 0.55	16.030 ± 3.97
Treonina	4.376 ± 0.27	5.155 ± 1.37
Serina	6.301 ± 0.60	7.754 ± 2.21
Alanina	4.331 ± 0.36	4.083 ± 0.90
Glicina	4.337 ± 0.36	4.083 ± 0.90
Valina	5.084 ± 0.42	5.902 ± 1.47
Cisteína	0.428 ± 0.14	0.671 ± 0.29
Metionina (1)	0.906 ± 0.10	0.960 ± 0.18
Metionina (2)	2.746 ± 0.76	3.381 ± 0.99
Isoleucina	4.258 ± 0.34	4.855 ± 1.48
Leucina	8.630 ± 0.85	12.700 ± 2.00
Triptofano	1.433 ± 0.18	1.200 ± 0.20

A.A. = aminoácido

- (1) Resultado promedio de 3 aminogramas de frijoles no suplementados.
- (2) Resultado promedio de 6 aminogramas de frijoles suplementados con 0.6 % de metionina.

CUENTA QUIMICA

Sin suplementar	Azufrados 28.51	Azufrados 28.89
Suplementados	Azufrados 64.68	Azufrados 68.17

Azufrados = Cisteína + Metionina

TABLA X  
 CUENTA QUIMICA DE ALGUNOS AMINOACIDOS  
 DE LA PROTEINA DEL FRIJOL NEGRO  
 (Patrón de comparación: Proteína de Huevo. FAO 1970) (59)

MUESTRAS	A.A. MAS DEFICIENTES		A.A. MAS EXCESIVOS	
		C.Q.		C.Q.
Crudo	Azufrados	29.3	Fenilalanina	133.4
	Isoleucina	82.1	Triptofano	131.8
	Valina	90.4		
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	Azufrados	37.6	Triptofano	137.6
	Isoleucina	89.8	Leucina	132.0
	Valina	94.5		
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	Azufrados	27.6	Leucina	137.4
	Isoleucina	93.2	Triptofano	120.6
	Valina	95.3		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	Azufrados	57.9	Leucina	127.3
	Valina	76.5	Fenilalanina	124.9
	Isoleucina	86.1		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	Azufrados	56.7	Leucina	127.5
	Isoleucina	89.4	Triptofano	120.2
	Valina	92.4		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	Azufrados	54.4	Fenilalanina	141.1
	Isoleucina	70.9	Lisina	140.3
	Valina	90.2		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	Azufrados	54.0	Lisina	136.5
	Isoleucina	74.5	Fenilalanina	133.4
	Valina	89.1		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del cocimiento total.	Azufrados	60.5	Fenilalanina	128.0
	Isoleucina	78.9	Triptofano	119.3
	Valina	95.5		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del cocimiento total.	Isoleucina	70.3	Fenilalanina	136.3
	Valina	80.7	Lisina	127.6
	Azufrados	86.7		

A.A. = aminoácidos

C.Q. = Cuenta Química

Azufrados = Metionina + Cisteína

El aminoácido con cuenta química mas baja es el "Aminoácido Limitante".

TABLA XI  
 CUENTA QUIMICA DE ALGUNOS AMINOACIDOS  
 DE LA PROTEINA DE LA ALUBIA  
 (Patrón de comparación: Proteína de Huevo. FAO 1970) (59)

MUESTRAS	A.A. MAS DEFICIENTES		A.A. MAS EXCESIVOS	
		C.Q.		C.Q.
Crudo	Azufrados	25.1	Treonina	133.3
	Isoleucina	66.5	Fenilalanina	127.4
	Valina	92.5		
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	Azufrados	33.4	Leucina	149.9
	Isoleucina	84.9	Fenilalanina	118.5
	Valina	85.7		
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	Azufrados	24.7	Fenilalanina	200.8
	Triptofano	67.2	Leucina	137.4
	Isoleucina	73.3		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	Triptofano	65.0	Leucina	119.3
	Azufrados	72.3	Lisina	114.8
	Isoleucina	79.6		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina al inicio de ésta.	Azufrados	52.0	Leucina	154.5
	Triptofano	68.2	Lisina	127.1
	Treonina	76.4		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	Azufrados	66.9	Leucina	148.7
	Isoleucina	78.9	Fenilalanina	126.1
	Valina	85.0		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina 30 minutos antes - del cocimiento total.	Azufrados	59.6	Fenilalanina	131.4
	Isoleucina	80.0	Leucina	131.0
	Triptofano	96.1		
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del cocimiento total.	Azufrados	63.5	Leucina	152.7
	Treonina	80.0	Fenilalanina	108.0
	Isoleucina	66.7		
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y - metionina después del cocimiento total.	Triptofano	58.1	Leucina	146.7
	Azufrados	76.6	Treonina	110.0
	Isoleucina	78.3		

A.A. = aminoácidos

C.Q. = Cuenta Química

Azufrados = Metionina + Cisteína

El aminoácido con cuenta química mas baja es el "Aminoácido Limitante".

TABLA XII

MEDICION DE LISINA DISPONIBLE EN FRIJOL NEGRO Y ALUBIA  
BAJO DIFERENTES TRATAMIENTOS  
(g/100g de proteína)

MUESTRAS	FRIJOL NEGRO	ALUBIA
Crudo	10.33	9.18
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	7.09	5.97
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	7.90	7.89
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	7.59	7.27
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	9.65	8.58
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	8.69	8.25
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	9.05	8.74
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	8.14	7.50
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	9.45	8.38

TABLA XIII

DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" E "IN VIVO"  
DE FRIJOL NEGRO (PHASEOLUS VULGARIS)

MUESTRAS	(%) DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"	(%) DIGESTIBILIDAD "IN VIVO"
Crudo	83.95	-
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	58.4	62.8 ± 5.0
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	67.1	67.3 ± 3.0
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	62.0	63.2 ± 2.03
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	68.6	61.6 ± 4.66
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	58.8	58.5 ± 2.9
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	64.3	62.0 ± 2.7
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	57.7	57.9 ± 2.8
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	62.6	65.5 ± 3.9
Caseina	99.23	86.9 ± 1.77

TABLA XIV

DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" E "IN VIVO"  
DE ALUBIA (PHASEOLUS VULGARIS)

MUESTRAS	(%) DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"	(%) DIGESTIBILIDAD "IN VIVO"
Cruda	76.17	-
Cocida y secada con caldo de cocción, sin metionina.	64.33	77.0 ± 3.5
Cocida y secada sin caldo de cocción, sin metionina.	61.46	77.1 ± 2.5
Cocida y secada con caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	70.41	76.4 ± 3.5
Cocida y secada sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	68.64	77.7 ± 2.3
Cocida y secada con caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	68.96	82.4 ± 1.72
Cocida y secada sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	70.90	81.13 ± 2.28
Cocida y secada con caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	60.17	77.69 ± 2.45
Cocida y secada sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	67.88	82.96 ± 3.41
Caseína	99.23	89.5 ± 1.5

TABLA XV

RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA DE LOS FRIJOLES  
EN LAS DIFERENTES PRUEBAS BIOLÓGICAS (REP).

MUESTRAS	FRIJOL NEGRO		ALUBIA	
	1° ensayo	2° ensayo	3° ensayo	4° ensayo
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	0.28±0.26	-	0.81±0.79	-
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	0.29±0.29	-	1.40±1.36	-
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	1.88±0.34	-	2.45±0.26	-
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	2.10±0.37	-	2.62±0.27	-
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	-	2.28±0.26	-	2.90±0.17
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	-	2.67±0.29	-	2.83±0.43
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	-	1.64±0.37	-	2.32±0.27
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	-	2.73±0.21	-	2.98±0.27
Caseína	2.49±0.35	2.71±0.30	2.57±0.43	3.05±0.43

TABLA XVI

RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA (REP)  
 EN ALUBIA Y FRIJOL NEGRO  
 (VALORES CORREGIDOS CON CASEINA, REP = 2.5)

MUESTRAS	REP	
	FRIJOL NEGRO	ALUBIA
Cocido y secado con caldo de cocción, sin metionina.	0.28	0.79
Cocido y secado sin caldo de cocción, sin metionina.	0.29	1.36
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	1.89	2.38
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina al inicio de ésta.	2.11	2.55
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	2.10	2.37
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina 30 minutos antes del cocimiento total.	2.46	2.32
Cocido y secado con caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	1.51	1.90
Cocido y secado sin caldo de cocción, adicionando sal y metionina después del cocimiento total.	2.52	2.44

TABLA XVII

DATOS ESTADISTICOS DEL FRIJOL NEGRO Y DE LA ALUBIA

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE DETERMINACIONES QUIMICAS Y BIOLOGICAS

CUENTA QUIMICA	R	ECUACION	PROBABILIDAD
DIGESTIBILIDAD IN VITRO	0.181	$Y = 0.051 X - 0.676$	$P < 0.001$
RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA	0.800		
DIGESTIBILIDAD IN VIVO	0.019		
LISINA DISPONIBLE	0.445		
RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA			
DIGESTIBILIDAD IN VITRO	0.399	$Y = 0.611 X + 6.898$	$P < 0.02$
DIGESTIBILIDAD IN VIVO	0.317		
LISINA DISPONIBLE	0.589		
LISINA DISPONIBLE			
DIGESTIBILIDAD IN VITRO	0.211		
DIGESTIBILIDAD IN VIVO	0.263		
DIGESTIBILIDAD IN VITRO			
DIGESTIBILIDAD IN VIVO	0.591	$Y = 1.187 X - 5.958$	$P < 0.02$

TABLA XVIII

## DATOS ESTADISTICOS DEL FRIJOL NEGRO Y ALUBIA

PRUEBA DE "t" INDEPENDIENTE ENTRE CASEINA Y FRIJOL NEGRO Y ALUBIA COCIDOS

CASEINA	t CALCULADA	t CRITICA	PROBABILIDAD	DIFERENCIA
FRIJOL NEGRO SIN METIONINA, SECADO SIN CALDO.	12.83	4.22	P < 0.001	A.S.
FRIJOL NEGRO SIN METIONINA, SECADO CON CALDO.	13.46	4.22	P < 0.001	A.S.
FRIJOL NEGRO CON METIONINA ADICIONADA AL INICIO DE LA COCCION, SECADO CON CALDO	3.70	3.40	P < 0.005	A.S.
FRIJOL NEGRO CON METIONINA ADICIONADA DESPUES DE COCIDO, SECADO CON CALDO.	6.16	4.22	P < 0.001	A.S.
FRIJOL NEGRO CON METIONINA ADICIONADA 30 MIN. ANTES DE TOTAL COCCION, SECA- DO CON CALDO.	2.56	2.18	P < 0.05	S.
ALUBIA SIN METIONINA, SECADA SIN CALDO.	5.01	4.59	P < 0.001	A.S.
ALUBIA SIN METIONINA SECADA CON CALDO.	8.98	4.44	P < 0.001	A.S.
ALUBIA CON METIONINA ADICIONADA DESPUES DE LA COCCION, SECADA CON CALDO	3,64	3.43	P < 0.005	A.S.

A.S. = ALTAMENTE SIGNIFICATIVA    S.= SIGNIFICATIVA

TABLA XIX

DATOS ESTADISTICOS DEL FRIJOL NEGRO Y DE LA ALUBIA

PRUEBA DE "t" INDEPENDIENTE DEL FRIJOL NEGRO Y DE LA ALUBIA, SIN CALDO Y CON CALDO

	t CALCULADA	t CRITICA	PROBABILIDAD	DIFERENCIA
FRIJOL NEGRO CON METIONINA ADICIONADA DESPUES DE LA COCCION, SECADO SIN CALDO VS. SECADO CON CALDO.	6.61	4.32	P < 0.001	A.S.
FRIJOL NEGRO CON METIONINA ADICIONADA 30 MIN. ANTES DE TOTAL COCCION, SECADA SIN CALDO VS. SECADA CON CALDO.	2.24	2.20	P < 0.05	S.
ALUBIA CON METIONINA ADICIONADA AL INICIO DE LA COCCION, SECADA SIN CALDO VS. SECADA CON CALDO.	2.66	2.26	P < 0.05	S.
ALUBIA CON METIONINA ADICIONADA DESPUES DE LA COCCION, SECADA SIN CALDO VS. SECADA CON CALDO.	4.37	4.02	P < 0.05	A.S.

A.S. = ALTAMENTE SIGNIFICATIVA

S. = SIGNIFICATIVA

TABLA XX

ANALISIS DE VARIANCIA ENTRE LOS FRIJOLES

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio	F
---------------------	------	-------------------	----------------	---

Frijol Negro

Entre clases	7	38.6415	5.5202	60.982
Dentro de clases	46	4.1640	0.0905	P < 0.001
Total	53	42.8055	—	

Alubia

Entre clases	7	16.8964	2.4138	31.2762
Dentro de clases	43	3.3186	0.0772	P < 0.001
Total	50	20.2150	—	

En las tablas XXI y XXII se presentan los resultados de la prueba de Tukey entre los frijoles.

El significado de las abreviaturas usadas es el siguiente:

M<sub>0</sub> .- Sin metionina.

M<sub>1</sub> .- Metionina al inicio de la cocción.

M<sub>2</sub> .- Metionina después de la cocción.

M<sub>3</sub> .- Metionina 30 minutos antes de la cocción.

N.S. - No significativo.

CC .- Con caldo

SC .- Sin caldo.

TABLA XXI  
PRUEBA DE TUKEY ENTRE LOS FRIJOLES

		SIN CALDO				CON CALDO				
		M <sub>0</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>0</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	
SIN CALDO	M <sub>0</sub>	gl		8.51	8.43	8.40	8.48	8.43	8.48	8.43
		Q		16.550	18.850	19.131	0.063	13.501	10.779	15.352
		P		<0.01	<0.01	<0.01	N.S.	<0.01	<0.01	<0.01
	M <sub>1</sub>	gl	8.41		8.46	8.51	8.51	8.46	8.51	8.46
		Q	10.591		3.558	3.208	16.616	1.952	5.417	0.045
		P	<0.01		N.S.	N.S.	<0.01	N.S.	<0.01	N.S.
	M <sub>2</sub>	gl	8.38	8.51		8.43	8.40	8.43	8.40	8.40
		Q	9.923	1.119		0.470	18.911	5.514	8.493	3.371
		P	<0.01	N.S.		N.S.	<0.01	<0.05	<0.01	N.S.
	M <sub>3</sub>	gl	8.38	8.51	8.48		8.48	8.43	8.48	8.43
		Q	8.316	2.258	1.103		19.194	4.879	8.351	3.028
		P	<0.01	N.S.	N.S.		<0.01	<0.05	<0.01	N.S.
CON CALDO	M <sub>0</sub>	gl	8.35	8.46	8.43	8.43		8.43	8.48	8.43
		Q	-4.841	16.609	15.081	14.022		13.562	10.843	15.413
		P	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01		<0.01	<0.01	<0.01
	M <sub>1</sub>	gl	8.35	8.46	8.43	8.43	8.40		8.43	8.40
		Q	8.571	1.570	0.483	0.576	14.067		3.145	1.784
		P	<0.01	N.S.	N.S.	N.S.	<0.01		N.S.	N.S.
	M <sub>2</sub>	gl	8.35	8.46	8.43	8.43	8.40	8.40		8.43
		Q	4.502	6.133	4.912	3.852	9.800	4.268		4.996
		P	N.S.	<0.01	<0.05	N.S.	<0.01	N.S.		<0.05
	M <sub>3</sub>	gl	8.35	8.46	8.43	8.43	8.40	8.40	8.40	
		Q	8.505	1.644	0.554	0.505	13.998	0.069	4.199	
		P	<0.01	N.S.	N.S.	N.S.	<0.01	N.S.	N.S.	

FRIJOL NEGRO

A L U B I A

TABLA XXII

PRUEBA DE TUKEY ENTRE LOS FRIJOLES

FRIJOLES NEGROS	CALDO	CC	SC	CC	CC	CC	SC	SC	SC
	MET.	$M_0$	$M_0$	$M_2$	$M_1$	$M_3$	$M_1$	$M_3$	$M_2$
	PROM.	0.2840	0.2912	1.5170	1.8892	2.1083	2.1135	2.4667	2.5223
	0.05	-----		-----		-----		-----	
	0.01	-----		-----		-----		-----	

ALUBIA	CALDO	CC	SC	CC	SC	CC	CC	SC	SC
	MET.	$M_0$	$M_0$	$M_2$	$M_3$	$M_3$	$M_1$	$M_2$	$M_1$
	PROM.	0.7879	1.3638	1.8993	2.3203	2.3755	2.3833	2.4361	2.5499
	0.05	-----		-----		-----		-----	
	0.01	-----		-----		-----		-----	

TABLA XXIII

PRUEBA DE "t" INDEPENDIENTE ENTRE LOS FRIJOLES

ALUBIA VS. FRIJOL NEGRO SIN CALDO DE COCCION.	n	t CALCULADA	t CRITICA	P
SIN SUPLEMENTAR.	12	4.910	4.587	P < 0.001
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS AL INICIO DE LA -- COCCION.	16	2.669	2.624	P < 0.02
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS DESPUES DE LA -- COCCION.	13	1.101		N.S.
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS 30 MIN. ANTES DE -- TOTAL COCCION.	14	0.866		N.S.
ALUBIA VS. FRIJOL NEGRO CON CALDO DE COCCION.				
SIN SUPLEMENTAR	13	3.661	3.497	P < 0.005
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS AL INICIO DE LA -- COCCION.	12	2.848	2.764	P < 0.02
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS DESPUES DE LA -- COCCION.	13	2.333	2.201	P < 0.05
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS 30 MIN. ANTES DE -- TOTAL COCCION.	12	2.337	2.228	P < 0.05
ALUBIA VS. FRIJOL NEGRO CON Y SIN CALDO DE COCCION				
SIN SUPLEMENTAR	25	5.137	3.767	P < 0.001
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS AL INICIO DE LA -- COCCION.	28	4.302	3.707	P < 0.001

## CONTINUACION TABLA XXIII

	n	t CALCULADA	t CRITICA	P
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS DESPUES DE LA -- COCCION.	24	1.292	2.064	N.S.
CON SAL Y METIONINA AGRE- GADOS 30 MIN. ANTES DE -- TOTAL COCCION.	24	0.391	2.064	N.S.

## VI

### D I S C U S I O N

En general, se encontró que la composición química aproximada del frijol negro y la alubia son similares y se encuentran dentro de los rangos reportados en la literatura para las leguminosas (6,7,65). Esta composición se ve afectada cuando se le añade el suplemento de metionina y sal, solamente en el contenido de cenizas, las cuales se incrementan considerablemente, la humedad en todos los casos resultó menor que la leguminosa cruda, debido al secado que se efectuó después de cocerlas. La eliminación del caldo disminuyó el contenido de cenizas en la semilla, y el contenido de proteína no se ve prácticamente afectado, a pesar de que el análisis del caldo, efectuado por otros autores ha demostrado que existe un 10% de este compuesto en el caldo de cocción (66, - 67).

El análisis de aminoácidos fue hecho en los frijoles -- crudos y con todos sus tratamientos, encontrándose que la metionina y los azufrados en general son bastante deficientes, lo que es bastante conocido y difundido por varios autores (11, 12, 65), esta carencia es reflejada en el bajo valor de su cuenta química, - que se incrementa notablemente, con la metionina añadida que fue del 0.6%; a pesar de esta cantidad agregada, continúan siendo los aminoácidos azufrados los limitantes, con la isoleucina como 2do.

limitante, y después la valina. En el caso de la alubia se encuentra un menor contenido de triptófano; de 1.2 g de triptófano/100 g de proteína, con respecto a 1.43 del frijol negro, lo que hace que en algunos casos se encuentre deficiente en la alubia. Esto puede ser importante y tiene que tomarse en cuenta sobre todo cuando se trata de suplementar estos frijoles con los cereales, pues se podría deducir que el frijol negro con exceso de triptófano y lisina suplementa mejor con el maíz (37), y la alubia que tiene ciertas deficiencias de triptófano, pero exceso de lisina, suplementaría mejor a otros cereales diferentes del maíz. En ambos casos se nota que los aminoácidos más excesivos son la fenilalanina y la leucina, este último también abundante en los cereales, especialmente en el maíz (68).

Se efectuó la correlación de la cuenta química con las diferentes determinaciones efectuadas, como se puede apreciar en la tabla XVII, y se encontró que existe una buena correlación --- ( $r = 0.800$ ) con la Relación de Eficiencia Proteica (Fig. 1), lo cual es de indudable valor, pues es posible que en un futuro cercano se pueda determinar con certeza la calidad de una proteína por este método químico.

También la medición de lisina disponible resultó ser un buen método químico que correlaciona con la Relación de Eficiencia Proteica como se puede ver en la misma tabla XVII y en la figura 2 con un  $r = 0.589$ .

La disminución de lisina disponible en las muestras secadas con caldo fue mayor que en las muestras secadas sin caldo -

(esto se refleja en el REP) y puede ser consecuencia que al evaporar más agua, se dañe la proteína disuelta en gran cantidad, y al unirse con la semilla este caldo sólido, repercuta en el contenido total de lisina disponible.

La digestibilidad "in vitro" en el frijol negro parece reflejar un daño en la proteína cuando se secó con caldo, pues -- los valores con este tratamiento fueron menores que cuando se secó sin caldo, los valores aquí obtenidos resultan inferiores a -- los reportados por otros autores (1,69,70) y siempre los cocidos dan menor digestibilidad que el crudo, aunque en la totalidad de los reportes se ha observado lo contrario. Este suceso puede ser debido a las diferentes técnicas empleadas, lamentablemente en el caso de frijoles la digestibilidad "in vivo" en crudo no se puede comparar con respecto a los cocidos, para ver si este resultado -- se reproduce con lo acontecido en la digestibilidad "in vitro", -- por la gran cantidad de tóxicos presentes.

Con respecto a la alubia su digestibilidad "in vitro", es ligeramente mayor que en el frijol negro, y no se encuentra -- que varíe al secarlo con caldo o sin caldo.

La digestibilidad "in vivo" del frijol resultó ser significativamente menor ( $P < 0.01$ ) que la de la alubia, y ambos menores significativamente que la caseña ( $P < 0.01$ ). La adición del suplemento no mejoró significativamente la digestibilidad con respecto a los no suplementados como sucedió con el REP, lo que puede indicar que a pesar de que la absorción es prácticamente igual, hay mayor retención en los frijoles suplementados que en los no --

suplementados (26).

Se encontró una buena correlación entre la digestibilidad "in vitro" e "in vivo" ( $r = 0.591$   $P < 0.02$ ) como puede observarse en la tabla XVII y figura 3.

La Relación de Eficiencia Proteica que se muestra en la tabla XV nos demuestra el real efecto de la suplementación, aunque la forma en que se procesó influyó en ese aprovechamiento; por ejemplo, en el frijol negro se notó que al añadir la metionina antes, al intermedio o al final de la cocción y secarlo con caldo, no llegó a tener valores tan elevados con los de la caseína, como se muestra en la tabla XVIII, lo que parece confirmar que se daña la calidad de la proteína al secarlo con el caldo. Con respecto a la alubia, sólo un tratamiento fue significativamente diferente de la caseína, además del frijol no suplementado, por lo cual en primera instancia se puede deducir que la alubia responde mejor a la suplementación. Como el estudio se hizo en 4 ensayos y los valores del patrón caseína variaron, se ajustó el REP de caseína a 2.5 (71, 72), Esto se puede observar en la tabla XVI y figura 4. Al efectuar los análisis estadísticos entre el tratamiento de secarla con caldo y sin caldo se encontró que tanto en el frijol negro como en la alubia había dos procesos cuyos valores difieren significativamente en la Relación de Eficiencia Proteica (tabla XIX).

Mediante un análisis de varianza se demostró, ya con el REP corregido, que en los diferentes tratamientos hechos a los frijoles no hubo una respuesta similar (tabla XX). Por lo que se-

procedió a efectuar la prueba de Tukey que compara todos los tratamientos para cada frijol.

Los resultados se muestran en las tablas XXI y XXII, de los que podemos deducir lo siguiente: el frijol negro sin suplementar secado con caldo y sin caldo es diferente significativamente de todos los que se suplementaron con la metionina ( $P < 0.01$ ). En este mismo frijol los que se suplementaron y secaron con caldo resultaron con una menor respuesta a la metionina que los que se suplementaron y secaron sin caldo, sobre todo a los que se les -- agregó este aminoácido al inicio y después de la cocción.

Con respecto a la alubia el tratamiento fué similar, y los mejores resultaron los suplementados y secados sin caldo, --- aunque realmente no hay diferencia significativa entre todos excepto cuando están sin suplementar y cuando se ha cocido y secado -- con caldo para después añadirle la metionina .

Finalmente en la tabla XVIII se muestra la prueba de -- "t" independiente del REP entre alubia vs frijol negro con sus diferentes tratamientos, y en estos datos estadísticos vemos en general que la alubia es mejor sin suplementar ya sea sacada con - caldo o sin caldo y en conjunto (con caldo - sin caldo), también es mejor cuando se suplementa desde un inicio con y sin caldo y en conjunto. Además la alubia es mejor cuando se agrega el suplemento 30 minutos antes de finalizar la cocción y después de terminada, con caldo, aunque ya no lo sea en conjunto. No se encontró una explicación satisfactoria del porqué al secarlo con caldo -- afecta la calidad de la proteína.

## CONCLUSIONES

Tomando en cuenta los resultados y los análisis estadísticos se ha llegado a las siguientes conclusiones.

1o. La adición de metionina (0.3% a la dieta) mejora -- marcadamente el valor de una leguminosa. La cantidad añadida al frijol, 0.6%, no impide que siga siendo el aminoácido limitante.

2o. La lisina y el triptófano son abundantes en el frijol negro lo cual lo hace ideal para sule entrar al maíz. En tanto la alubia que tiene deficiencias en triptófano y exceso de leucina, puede suplementar a otros cereales.

3o. La lisina disponible es un buen parámetro para medir daño a un alimento por procesamiento, y este podría ser un método químico parcialmente utilizado como un pronosticador de la calidad de la proteína en alimentos procesados.

4o. Es posible predecir la digestibilidad de un alimento midiéndola únicamente por método químico, debido a la correlación encontrada entre digestibilidad "in vitro" e "in vivo". En este punto cabe añadir que la alubia resultó de mayor digestibilidad que el frijol negro, aunque todavía menor que la caseína.

5o. El aprovechamiento de un alimento no puede ser medido únicamente por lo que se ha absorbido. Pues se encontró que se hubo igual absorción entre los frijoles con y sin suplemento, y -

su REP resultó diferente, o en caso contrario, la caseína con una mayor digestibilidad, no varió en REP, en muchos casos, con los frijoles suplementados.

6o. La alubia resultó ser mejor alimento que el frijol negro sin suplementar, y en general responde mejor a las condiciones de la suplementación.

7o. El calor no parece afectar la disponibilidad de la metionina, pues la respuesta a este suplemento en las diferentes etapas de la cocción es similar, lo cual es benéfico tanto para la elaboración de frijoles a nivel casero como a nivel industrial.

8o. El caldo de cocción secado y añadido a la semilla baja la calidad del frijol, por lo que se sugiere que a nivel industrial se busque un método adecuado para usar este caldo sin que se dañe su calidad.

9o. La cuenta química resultó ser el mejor método químico para predecir la calidad nutritiva de un alimento, por lo cual se recomienda tratar de mejorar este método con el objeto de utilizarse más comúnmente, excepto en el caso de leguminosas crudas y otras plantas silvestres, o aquellas en las que deban hacerse pruebas con animales con el objeto de conocer la toxicidad.

## VIII

### B I B L I O G R A F I A

- 1.- Aykroyd, W.R. y J. Doughty. "Las leguminosas en la nutrición humana". Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 1964. 152 p.
- 2.- Bressani, R. "Legumes in human diets and how they might be -- improved". In: Nutritional improvement of foods legumes by -- breeding. Max Milner (Ed). Protein advisory Group of United - Nations Systems. New York, 1972. pp. 15-40.
- 3.- Harborne, J.B., D. Boulter y B.L. Turner. "Chemotaxonomy of - the leguminosae". Academic Press. London and New York, 1971 - 612 p.
- 4.- Hutchinson, J.B. "The evolutionary diversity of the pulses" - In: Proceeding of the Nutrition Society. Two Hundred and --- twelfth Scientific Meeting School of Anatomy, Downing Street, Cambridge, 1970. pp. 49-55.

- 5.- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). "Sistemas de producción de frijol". Cali, Colombia, 1976. 91 p.
- 6.- Wu Leung, W.T. y M. Flores. "Tablas de composición de alimentos para uso en América Latina". INCAP. ICNND. Editorial Interamericana, S.A. México, 1966. 132 p.
- 7.- Hernández, M., A. Chávez y H. Bourges. "Valor nutritivo de los alimentos mexicanos". Publicaciones del Instituto Nacional de la Nutrición L-12, 6a. edición. México, 1971. 34 p.
- 8.- Pennachioti, I. y H. Schmid-Hebbel. "Valoración de aminoácidos en leguminosas chilenas". Arch. Lat. Nutr., 11: 232-244 1968.
- 9.- Bliss, F.A. y T.C. Hall. "Food legumes-compositional and nutritional changes induced by breeding". Cereal Foods World, - 22 (3): 106-113, 1977.
- 10.- Patwardham, J.N. "Pulses and beans in human nutrition". Am. J. Clin. Nutr., 11: 12-30, 1962.
- 11.- Jaffe, W.G. "Limiting essential aminoacid of some legume --- seeds". Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71: 398-399, 1949.

- 12.- Baldi, G. y F. Salamini. "Variability of essential aminoacid in seeds of 22 Phaseolus Species". Theoretical and Applied - Genetics, 43: 75-78, 1973.
- 13.- Chatterjee, S.R. y Y.P. Abrol. "Aminoacid composition of new varieties of cereal and pulses and nutritional potencial of cereal-pulse combinations". J. Food Sci. and Tech., 12 (5): 221-227, 1975.
- 14.- Hernández, M. "Efecto de las condiciones de cocción sobre la actividad tóxica residual, disponibilidad de aminoácidos y - valor proteínico de algunas leguminosas. Tesis de postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos. INCAP. Guatemala, -- 1975. 31 p.
- 15.- Jaffé, W.G. y O. Brucher. "Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (Phaseolus vulgaris)". Arch. Lat. Nutr., 22 (2): 267-281, 1972.
- 16.- Jaffé W.G. y C.L. Vega Lette. "Heat labile growth-inhibition factors in beans (Phaseolus vulgaris)". J. Nutr., 94; 203 - 210. 1968.
- 17.- Jaffé, W.G. "Protein digestibility and trypsin inhibitor activity of legume seeds". Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 75: 219, 1950.

- 18.- Jaffé, W.G. "Toxic factors in beans. Their practical importance". In: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human feeds. Proceeding of a Meeting Held in Ribeira Preto. Arch. Lat. Nutr. Caracas, Venezuela, 1973. pp. 199-209.
- 19.- Liener, I.E. "Toxic factors in edible legumes and their elimination". Am. J. Clin. Nutr., 11: 281-298, 1962.
- 20.- Jaffé, W.G. y M. J. Gómez. "Beans of high or low toxicity". Qualitas Plantarum. Pl. Fds. Hum. Nutr., 24 (3/4): 359-365, 1975.
- 21.- Wagner, L.P. y J.P. Riehm. "Purification and partial characterization of a trypsin inhibitor isolated from navy bean" Arch. Biochem. Biophys., 121:672-677, 1967.
- 22.- Fornstedt, N. y J. Porath. "Characterization studies on a new lectin found in seeds". Febs Letters, 57 (2): 187, 1975.
- 23.- Dahlgren, K. y J. Porath. "On the purification of phytohemagglutinin from Phaseolus vulgaris seeds". Arch. Biochem. Biophys., 137: 306-314, 1970.
- 24.- Poretz, R.D. "Purification and properties of the hemagglutinin from Sophora japonica seeds". Biochem., 13: 250-256, 1974.

- 25.- Elfás, L.G., M. Hernández y R. Bressani. "The nutritive value of precooked legume flours processed by different methods". *Nutr. Rep. Int.*, 14 (4): 385-403, 1976.
- 26.- Kakade, M.L. y R.J. Evans. "Nutritive value of navy beans -- (Phaseolus vulgaris)". *Brit. J. Nutr.*, 19: 269-276, 1965.
- 27.- Jaffé W.G. y M.E. Flores. "La cocción de frijoles (Phaseolus vulgaris)". *Arch. Lat. Nutr.*, 25: 79-89, 1975.
- 28.- Jaffé W.G. "Factor affecting the nutritional value of beans" In: *Nutritional improvement of food legumes by breeding*. Max Milner (Ed). Protein Advisory Group of the United Nations -- Systems. New York, 1972. pp. 43-49.
- 29.- Gómez Brenes, R., L.G. Elfás, M.R. Molina, G. de la Fuente y R. Bressani. "Changes in chemical composition and nutritive value of common beans and other legume during house cooking" In: *Nutritional aspects of common beans and other legume -- seeds as animal and human feeds*. Proceeding of a Meeting -- Held in Ribeirao Preto. *Arch. Lat. Nutr. Caracas, Venezuela*, 1973. pp. 93-105.
- 30.- Molina, M.R., G. de la Fuente y R. Bressani. "Interrelaciones entre tiempo de remojo, tiempo de cocción, valor nutritivo y otras características del frijol (Phaseolus vulgaris)". *Arch. Lat. Nutr.*, 24: 469-483, 1974

- 31.- Bressani, R., L.G. Elfas y A.T. Valiente. "Effect of cooking and of aminoacid supplementation on the nutritive value of - black beans (*Phaseolus vulgaris* L.)". *Brit. J. Nutr.*, 17: -- 69-77, 1963.
- 32.- Bressani, R. y L.G. Elfas. Evaluación de la calidad proteínica de varias leguminosas de grano usando diversos métodos -- biológicos". *Arch. Lat. Nutr.*, 26 (3): 325-339, 1976.
- 33.- Dutra de Oliveira, J.E. "Studies on the nutritive value of - beans". In: Nutritional aspects of common beans and other -- legume seeds as animal and human feeds. Proceeding of a Meeting Held in Ribeirão Preto. *Arch. Lat. Nutr. Caracas, Venezuela*, 1973. pp. 13-26.
- 34.- Kakade, M.L. y R.J. Evans. "Growth inhibition of rats fed -- raw navy bean (*Phaseolus vulgaris*)". *J. Nutr.*, 90: 191-198. 1966.
- 35.- Sanahuja, J.C. "Efecto de las dietas desequilibradas en aminoácidos: sus proyectos en la nutrición humana". *Arch. Lat. Nutr.*, 23: 279-289, 1973.
- 36.- Elfas, L.G., R.P. Bates y R. Bressani. "Mezclas vegetales -- para consumo humano. Desarrollo de la mezcla vegetal INCAP - XVII, a base de semillas de leguminosas". *Arch. Lat. Nutr.*, 19 (2): 109-127, 1969.

- 37.- De Groot, A.P. y P.G.C. Van Stratum. "Biological evaluation of legume proteins in combination with other plant protein services". *Qualitas Plantarum et Materiae Vegetables*, 10 -- (14): 167-186, 1963.
- 38.- Tannous, R.I.; J.W. Cowan, F. Rinnu, R.J. Asfour y Z.I. Sabry. "Protein-rich food mixtures for feeding infants and -- young children in the Middle East. I. Development and evaluation of Laubina mixtures". *Am. J. Clin. Nutr.*, 17: 143-147, 1965.
- 39.- Asfour, R.Y., R.I. Tannous, Z.I. Sabry y J.W. Cowan. "Protein -rich food mixtures for feeding infants and young children - in the Middle East. II. Preliminary clinical evaluation with Laubina mixtures". *Am. J. Clin. Nutr.*, 17: 148-151, 1965.
- 40.- Sadre, M., R. Payan, G. Donoso y H. Hedayat. "Protein food - mixture for Iran". *J. Am. Diet. Assoc.*, 60 (2): 131-134, 1972.
- 41.- Liener, I.E. "Antitryptic and other antinutritional factors in legumes". In: *Nutritional improvement of food legumes by breeding*. Max Milner (Ed.). Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972. pp. 239-253.
- 42.- Russell, W.C., R.W. Taylor, T.G. Mehrhof y R.D. Hirsch. "The nutritive value of the protein of varieties of legumes and -

- the effect of methionine supplementation". *J. Nutr.*, 32: 313-325, 1946.
- 43.- Jaffé, W.G. "El valor biológico de algunas leguminosas de importancia en la alimentación venezolana". *Arch. Venezolanas Nutr.*, 13: 175-191, 1963.
- 44.- Purdon, M.E. y R.V. Brown. "Biological response of rats fed aminoacid supplemented pea bean (*Phaseolus vulgaris*) diets". *Arch. Lat. Nutr.*, 12: 117-128, 1967.
- 45.- Jansen, G.R. "Aminoacid supplementation of common beans and other legumes". In: Nutritional aspects of common beans and other legumes seeds as animal and human feeds. Proceeding of a Meeting Held in Ribeirao Preto. *Arch. Lat. Nutr. Caracas, Venezuela*, 1973. pp. 217-232.
- 46.- Bricker, M.L. y H.H. Mitchell. "The protein requirements of the adult rat in terms of the protein contained in egg, milk, and soy flour". *J. Nutr.*, 34: 491-505, 1947.
- 47.- Tuttle, S.G., S.H. Bassett, W.H. Griffith, D.B. Mulcare y M. E. Swendsseid. "Further observations on the aminoacid requirements of older men. II. Methionine and Lysine". *Am. J. --- Clin. Nutr.*, 16: 229-231, 1965.

- 48.- Nakagawa, I., T. Takahashi y T. Susuki. "Aminoacid requirements of children: minimal needs of lysine and methionine -- based on nitrogen balanced method". J. Nutr., 74: 461-467, - 1961.
- 49.- Richardson, L.R. "Southern pea and other legume seeds as a source of protein of the growth of rats". J. Nutr., 32: 313-325, 1946.
- 50.- Lehrer, W.P. Jr., E. Woods y W.M. Beeson. "The value of meat and peas alone or in combination as a source of protein for growth". J. Nutr., 33: 469-479, 1947.
- 51.- Woods, E., W.M. Beeson y D.W. Bolim. Field pea as a source of protein for growth". J. Nutr., 26: 327-337, 1943.
- 52.- Nath, M.C. y N. Nath. "Effect of methionine, vitamin B<sub>12</sub> and hydrolyzed glucose cycloacetato on protein nutritive value of *Lens esculenta* (Lentil)". Indian J. Med. Res., 53: - 1010-1013, 1965.
- 53.- Sherwood, F.W., V. Weldon y W.J. Peterson. Effect of cooking and of methionine supplementation on the growth promoting -- property of cowpea (*Vigna sinensis*) protein". J. Nutr., 52: 199-208, 1954.

- 54.- Vijayalakshmi, K.S., D. Narayanaswamy, S. Venkat Rao y M. Swaminathan. "Blood aminoacid studies in the weanling rat on diets containing raw and cooked redgram". Indian J. Nutr. -- Diet., 91: 129-134, 1972.
- 55.- Gould, R.F. (Editor). World Protein Resources. "Production of Lysine and Methionine". American Chemical Society. Washington, 1966.
- 56.- Fieser, L.F. y M. Fieser. "Química Orgánica Superior". Tomo I. Ediciones Grijalbo, S.A. Barcelona-México, D.F., 1966. -- pp. 989-1102.
- 57.- Official Methods of Analysis. Eleventh Edition. Washington, U.S.A., 1970.
- 58.- Moore, S. y W.H. Stein. "Chromatographic determination of aminoacids by the use of automatic recording equipment". Methods in enzymology. Vol. VI. Ed. Academic Press. New York - and London, 1963. pp. 819-830.
- 59.- Food policy and food science service, nutrition division, FAO. "Aminoacid contents of food and biological data". Proteins - Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO Nutritional Studies Nº 24. Rome, 1970. 286 p.

- 60.- Oke, O.L. y I.B. Umoh. "Nutritive value of leaf protein. A note on the comparison of "in vitro" and "in vivo" methods". *Nutr. Rep. Int.*, 10 (6): 397, 1974.
- 61.- Lombard, J.H. y D.J. de Lange. "The chemical determination of triptophan in foods and mixed diets". *J. Anal. Biochem.*, 10: 260-265, 1965.
- 62.- Bruno, D. y K.J. Carpenter. "A modified procedure for the estimation of available lysine in food proteins". *J. Biochem.*, 57: 13, 1957.
- 63.- Lea C.H., L.J. Parr y K.J. Carpenter. "Chemical and nutritional changes in stored herring meal". *Brit. J. Nutr.*, 14: 91, 1960.
- 64.- Carpenter, K.J., M.E. Ellinger, M.I. Munlo y E.J. Roilife. "Fish products as protein supplements". *Brit. J. Nutr.*, 11: 162, 1957.
- 65.- Dako, P.Y. "Chemical and biological evaluation of *Mucuna pruriens* (utilis)" beans. *Nutr. Rep. Int.*, 15 (2): 239-244, 1977.
- 66.- Jaffé, W.G., I.D. González y M.C. Mondragón. "Composición de caldos de frijoles". *Arch. Lat. Nutr.*, 26 (1): 75-83, 1977

- 67.- Sotelo-López, A., M. Hernández y M.E. Arteaga. "Determinación de inhibidores de tripsina y hemaglutininas en algunas leguminosas". Arch. Invest. Med., 1978. En Prensa.
- 68.- Bressani, R. "La importancia del maíz en la nutrición humana en América Latina". En: Mejoramiento nutricional del maíz". INCP. Guatemala 6-8 de marzo de 1972 (Guatemala, INCAP, 1972) pp. 5-30 (Publicación INCAP L-3).
- 69.- Bressani, R., L.G. Elfas y M.R. Molina. "Estudios sobre la digestibilidad en la proteína de varias especies de leguminosas". Arch. Lat. Nutr., 27 (2): 215-231, 1977.
- 70.- Bressani, R., L.G. Elfas, M.T. Huevo y J.E. Braham. "Estudios sobre la producción de harinas precocidas de frijol y caupi, solos y combinados mediante cocción-deshidratación". Arch. Lat. Nutr., 27 (2): 247-260, 1977.
- 71.- Thompson, L.V. "Preparation and evaluation of mung bean protein isolates". J. Food Sci., 42: 202-206. 1977.
- 72.- Molonon, B.R. y J.A. Bovers. "Sensory evaluation and protein value of beef and beef-cottonseed blends". J. Food Sci., 41: 1263-1265, 1977.