

78  
207



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN LAS  
PROPIEDADES TERMICAS DE LAS  
SEMILLAS DE FRIJOL

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A I  
JESUS LOPEZ GUERRERO



MEXICO, D. F.

TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

1994



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



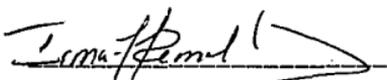
EXÁMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUÍMICA

**Jurado Asignado**

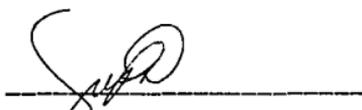
<b>Presidente</b>	Prof. FEDERICO GALDEANO BIENZOBAS.
<b>Vocal</b>	Prof. FRANCISCA AIDA ITURBE CHIÑAS.
<b>Secretario</b>	Prof. IRMA OFELIA BERNAL LUGO.
<b>1er. Suplente</b>	Prof. HERMILO LEAL LARA.
<b>2do. Suplente</b>	Prof. ANDRES ALFREDO IRUEGAS EVARISTO

Sitio donde se desarrollo el tema:  
División de Estudios de Posgrado.  
Facultad de Química.  
Universidad Nacional Autónoma de México.

Asesor del Tema

  
DRA. IRMA OFELIA BERNAL LUGO.

Supervisor Técnico

  
Q. MARGARITA PORTILLA BAUZA.

Sustentante

  
JESUS LOPEZ GUERRERO.

## **Dedicatoria.**

Papá y Mamá, este trabajo es suyo, este objetivo es solo de ustedes, por que siempre han estado conmigo, por que siempre me han dado su apoyo, por que siempre me han sabido sacar adelante y en la vida ustedes son mis mejores maestros. Por todo lo anterior y por que los quiero y los admiro y por muchas cosas más, les dedico esta Tesis y mi Examen Profesional

Con todo mi amor  
Muchas y Mil Gracias.

A toda mi familia, a Bony, Monserrat Svetlana y Adriana, a Tere, a Paty, Dante y Nicolás, a Pepe, (?) y Norma, y a mi Hermana consentida Flor Mireya.

De manera muy especial a mi chiquita, que siempre ha estado a mi lado en todo momento, para ti Laura con todo mi amor.

## **Agradecimiento.**

A la Doctora. Irma Bernal Lugo y a la Química Margarita Portilla Bauza por toda su ayuda y dedicación y por su amistad durante la realización del presente trabajo y también por ser mis maestras.

Al Jurado por sus consejos y su colaboración en la revisión del presente trabajo.

## INDICE.

Capítulo.	Pag.
Resumen.	1.
I. INTRODUCCION.	3.
I.1. Antecedentes.	4.
I.1.1. Estructura de la semilla y componentes químicos.	4.
I.1.2. Proceso de cocción.	7.
I.1.3. Fenómeno de endurecimiento.	8.
I.1.4. Efecto del almacenamiento en la composición de la semilla de frijol.	9.
II. OBJETIVOS.	11.
III. MATERIAL Y METODOS.	12.
III.1. Material.	12.
III.2. Equipo.	12.
III.3. Metodología.	12.
III.3.1. Determinación de tiempos de cocción para las variedades Michigan y Ojo de Cabra	12.
III.3.2. Análisis Térmico.	14.
III.3.3. Preparación de las muestras para el Análisis Térmico.	15.
III.3.4. Condiciones para la obtención de Curvas Calorimétricas.	16.
III.3.5. Determinación de Humedad.	16.
IV. RESULTADOS.	17.
V. DISCUSION.	30.
VI. CONCLUSIONES.	36.
VII. BIBLIOGRAFIA.	37.

## RESUMEN.

El frijol en México es un alimento básico para la población que lo consume, constituye una fuente importante de proteínas, vitaminas y minerales.

Para su consumo, el frijol, al igual que otras leguminosas debe ser cocido. En nuestro país este proceso térmico se efectúa después de someter la semilla a un remojo previo. Durante estas etapas las pectinas se solubilizan, el almidón se gelatiniza y las proteínas se desnaturalizan. Los cambios estructurales y fisicoquímicos sufridos por estas biomoléculas se reflejan en la suavización de la semilla, la pérdida de toxicidad, la adquisición de sabor agradable y un aumento en la digestibilidad.

Diferentes cultivares de frijol presentan diferentes tiempos de cocción, lo que sugiere que el grado de estructuración de estas biomoléculas podría estar asociado a la sensibilidad térmica mostrada por los diversos cultivares.

La semilla de frijol almacenada presenta un fenómeno de endurecimiento que se hace notar cuando el frijol es sometido a el proceso de cocción, en el que el tiempo de dicho proceso, es significativamente mayor que el tiempo de cocción de un frijol fresco.

Durante este fenómeno de endurecimiento la composición química de la semilla se modifica. Estas diferencias en composición podrían modificar las interacciones intramoleculares o establecer nuevas interacciones intermoleculares. Estas nuevas interacciones podrían a su vez conducir a cambios en las propiedades de estructuración y por tanto de sensibilidad térmica, lo cual afectaría negativamente la capacidad de la semilla para suavizarse durante el procesamiento térmico (cocción).

En este trabajo se estudió si el grado de estructuración del almidón y de las proteínas contribuía al tiempo de cocción del frijol. Lo anterior se realizó a través de determinar las propiedades térmicas de la semilla control y deteriorada en dos cultivares de frijol, Michigan y Ojo de Cabra. Se encontró que en frijol fresco, el grado de estructuración del almidón y proteínas fué menor en Michigan, el cultivar que presentó un menor tiempo de cocción, que en Ojo de Cabra, el cultivar con un mayor tiempo de cocción.

El efecto del almacenamiento de la semilla en la estructuración de estas biomoléculas dependió de si la evaluación se hacía en semilla con o sin remojo. En el primer caso, el almacenamiento aumentó la sensibilidad térmica del almidón y de las proteínas respecto a su control también remojado. En cambio

en semilla seca el almacenamiento disminuyó la sensibilidad térmica pero solo del almidón en Michigan. Los resultados anteriores se interpretaron como que en frijol fresco, el grado de estructuración del almidón y de las proteínas esta asociado al tiempo de cocción.

En algunos cultivares como el Michigan, el almacenamiento, aparentemente, incrementa la estructuración de las biomoléculas aquí estudiadas. Sin embargo, en semillas almacenadas pero no en frescas, el remojo induce una disminución muy importante en el grado de estructuración de estas biomoléculas.

## I. INTRODUCCION.

Uno de los principales alimentos en América Latina es sin duda el Frijol (*Phaseolus vulgaris*). En México se consume por todos los estratos sociales. Esta leguminosa provee cerca del 30% de la proteína de la dieta de las poblaciones rurales. También constituye una fuente importante de carbohidratos complejos, fibra y algunos minerales como el hierro. Sus proteínas presentan un alto contenido de lisina, sin embargo, tienen pocos aminoácidos azufrados, por lo que se complementa cuando se consume con cereales (arroz, maíz, cebada y ajonjolí); de esta forma el frijol aporta la lisina y los cereales aportan los aminoácidos azufrados como son la metionina y la cisteína (30, 48, 56).

No obstante todas las ventajas que presentan, las leguminosas contienen factores tóxicos y antinutricionales que limitan su aprovechamiento, entre estos se encuentran los inhibidores de tripsina, fitohemagglutininas, factores biogénicos, glucósidos cianogénicos, factores de flatulencia, etc. (50).

Para su consumo el frijol al igual que otras leguminosas debe ser cocido. Durante este tratamiento térmico ocurren cambios estructurales y fisicoquímicos como la gelatinización del almidón, la desnaturalización de las proteínas y la solubilización y despolimerización de las pectinas. Estos cambios se reflejan en la suavización de la semilla, la pérdida de toxicidad, la adquisición de sabor agradable y un aumento en su digestibilidad. Lo anterior sugiere que cualquier factor que modifique la facilidad de estas biomoléculas para realizar su transición térmica afectará en forma importante el proceso de cocción.

Bajo ciertas condiciones de almacenamiento ( $T \geq 21^\circ \text{C}$  y  $\text{HR} \geq 60\%$ ) el frijol se ve afectado por cambios indeseables que alteran negativamente su calidad (12, 31, 33). Estos granos requieren de un mayor tiempo de cocción para lograr la suavidad deseada por el consumidor y se dice que el frijol se ha endurecido. Esta pérdida en la calidad culinaria va acompañada de una disminución del valor nutritivo de la semilla (2, 57).

La pérdida de la calidad del frijol durante el almacenamiento disminuye la cantidad del grano disponible para la alimentación y además representa pérdidas económicas para el distribuidor ya que el valor comercial del grano disminuye; para el industrial, el endurecimiento del frijol dificulta tanto la estandarización del proceso como la del producto terminado. Por su parte el

ama de casa rechaza el frijol endurecido porque requiere un mayor gasto de energía para su cocción.

En los últimos cinco años México ha sido el mayor productor de América Central y América del Norte, sin embargo el 10 % de esta producción se pierde en almacén debido al fenómeno de endurecimiento (42).

Los trabajos de investigación sobre el mecanismo por medio del cual el frijol se endurece en almacén se han enfocado principalmente en las alteraciones que sufre la pared celular y sus componentes (pectinas, iones divalentes, lignificación). Sin embargo, el mecanismo de endurecimiento del frijol no ha sido claramente establecido.

Estudios en nuestro y otros laboratorios han demostrado que los contenidos de fitina (8, 44), cuerpos proteicos (8), solubilidad de proteínas (7) y taninos (12) disminuyen en el frijol difícil de cocer. Estos cambios en la composición de la semilla endurecida durante el almacenamiento podrían modificar o establecer interacciones entre proteína-proteína o entre proteína-y almidón o entre estas macromoléculas y otros componentes que se generaran durante el almacenamiento. Estas nuevas interacciones podrían conducir a cambios en las propiedades funcionales de las proteínas y el almidón de la semilla, lo cual a su vez afectaría negativamente la capacidad de la semilla para suavizarse durante la cocción.

## **I.1. ANTECEDENTES.**

### **I.1.1. Estructura de la semilla y componentes químicos.**

Las características físicas de el frijol como son tamaño y color son muy variadas. La semilla de frijol presenta una cubierta externa o Testa que protege a los cotiledones que a su vez, protegen al eje embrionario. Este consta de el Epicotilo que es la parte terminal de la plántula. La parte inmediata al eje es el Hipocotilo, que se prolonga hacia la Radícula convirtiéndose en la raíz primaria de la planta. En la superficie del grano se localiza el Hilio que es la parte donde el óvulo se encuentra unido al Funiculo, y el Micropilo que es una diminuta apertura de la testa (Fig. 1; 17).

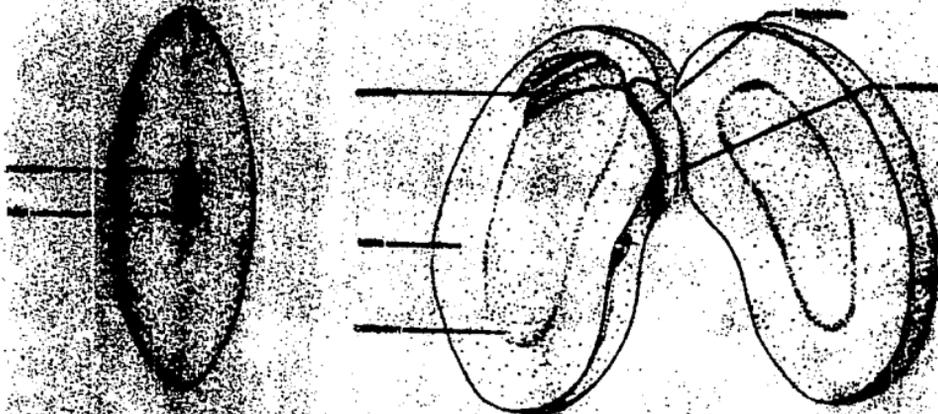


Figura 1. Estructura de la semilla de Frijol. (17)

Los cambios químicos y estructurales inducidos por el tratamiento térmico y el endurecimiento se realizan en los cotiledones, por lo que a continuación se describen las estructuras y componentes de este tejido.

El citoplasma de las células del cotiledón contienen proteínas distribuidas en el citoplasma en forma amorfa; y granos elípticos de almidón, embebidos en una matriz que consiste de cuerpos proteicos. Los cuerpos proteicos poseen inclusiones cristalinas o globoides las cuales son ricas en ácido fítico. Las proteínas de reserva también se encuentran localizadas en el interior de estos orgánulos.

El ácido fítico o hexafosfato de mioinositol, es la forma en que las semillas almacenan fosfato orgánico. Los contenidos de ácido fítico en el grano de frijol varían de 0.2 a 2.5 % con base en peso seco (52). La estructura polar de esta molécula le proporciona un fuerte potencial quelante, por lo que interacciona con cationes mono y divalentes que incluyen a ciertos minerales esenciales en la dieta, como el Zn, al que hace biológicamente inaccesible para su absorción (52). En el grano de frijol el 90 % de ácido fítico se encuentra soluble (6, 14), en forma quizá de un complejo proteína-ion divalente-fítico. El resto se encuentra en forma insoluble depositado en globoides cristalinos del cuerpo proteico (fitato [52]).

La pared celular es la estructura que rodea al protoplasto y consiste de microfibrillas de celulosa, hemicelulosa y lignina. Las paredes celulares de dos células contiguas están unidas por la lamela media formada principalmente por sustancias pécticas (35). Este cemento intracelular es una mezcla de polisacáridos constituidos por pectinas, polímeros del ácido galacturónico esterificado parcialmente con grupos metilo, los grupos carboxilo libres interaccionan con iones inorgánicos, para formar pectatos. La pared celular también contiene de 5 a 10 % de compuestos polifenólicos en la forma de complejos polisacáridos-proteína-polifenol, además de ciertos polisacáridos neutros (25).

La testa de la semilla de frijol, al igual que la de otras leguminosas es rica en taninos y ligninas (4, 25). Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua, de peso molecular entre 500 y 3000 daltones y que poseen la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas (25). Los dos componentes monoméricos más abundantes son los compuestos isoméricos catequina y

epicatequina, los cuales se condensan para formar polímeros hexaméricos y heptaméricos.

La lignina es un polímero tipo malla compuesto de alcoholes aromáticos sustituidos. La estructura tridimensional consiste de cadenas lineales entrecruzadas por una variedad de enlaces covalentes intercadena. Es un compuesto no cargado, insoluble y ampliamente distribuido en tejidos vegetales donde se encuentra unido en forma covalente a los componentes de la hemicelulosa de la pared celular y de la lamela media (25).

La función de la lignina es disminuir la permeabilidad del agua a través de la pared celular, impartir rigidez y unir células que crean una estructura resistente al impacto, compresión y deformación.

### **1.1.2. Proceso de cocción.**

La forma más común de preparar el frijol para el consumo humano es el proceso de cocción de las semillas secas. Durante la cocción ocurren cambios estructurales en la semilla los cuales se traducen en la suavización de la semilla y la adquisición de sabor y aroma agradables al consumidor (54).

Usualmente antes de la cocción, los frijoles son remojados de 12 a 18 horas a temperatura ambiente, lo que origina que su cocción sea más rápida. El Hilio juega un papel muy importante en la absorción de agua. A través de esta estructura el agua entra al frijol y se esparce hacia la periferia, con lo cual la cubierta se arruga. Estas arrugas desaparecen cuando los cotiledones se hinchan subsecuentemente y llenan la cubierta de la semilla (15).

Durante el remojo los gránulos de almidón se hidratan con el consecuente aumento en el volumen, iniciándose su gelatinización. La toma de agua por los polisacáridos del cotiledón reduce la adhesión intracelular lo que resulta en una disminución de la firmeza del grano (51)

En el tratamiento térmico (cocción), el almidón sufre su gelatinización total y las proteínas se desnaturalizan (21), hay destrucción de antimetabolitos como el inhibidor de tripsina y las lecitinas, la remoción parcial de los polifenoles lo que incrementa la disponibilidad de las proteínas y la solubilización de la matriz intracelular de la lamela media causando la separación de las células del cotiledón (31, 54, 55).

De lo anterior se concluye que cualquier factor que modifique cualitativa o cuantitativamente los componentes de la pared celular y/o la susceptibilidad de

los gránulos de almidón a la gelatinización o la estabilidad térmica de las proteínas afectará en forma importante el proceso de cocción.

### 1.1.3. Fenómeno de endurecimiento.

Los factores que se han relacionado con el endurecimiento del frijol durante el almacenamiento son: humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento (12). El frijol con un contenido de humedad de entre 13-18% requiere de tiempos de almacenamiento mayores de 6 meses para endurecerse, siempre y cuando la temperatura de almacenamiento sea menor de 30°C (12), pero si se almacena a 4°C, no se endurece ni en 2 años (19), expuesto a 100% de humedad relativa y a 14°C solo requiere de 14 días de almacenamiento para aumentar su tiempo de cocción (29). La velocidad del incremento en el grado de endurecimiento se debe principalmente a las condiciones de temperatura y humedad bajo las cuales se almacena el grano.

Las regiones donde se produce, almacena y consume el frijol son por lo general de tipo tropical donde la humedad relativa promedio es de 85% y la temperatura de 30°C; semitropical con 65% de humedad relativa en el ambiente y 24°C; y en las zonas templadas con una humedad relativa del 35% y temperaturas entre 15 y 20°C. Cuando el frijol se almacenó en el laboratorio en condiciones similares a las anteriores, se encontró que en alta humedad relativa y temperatura (75% HR y 30°C) el frijol inicia su proceso de deterioro a los 7 días de estar almacenado (17).

La información existente en la literatura respecto al fenómeno de endurecimiento se pueden resumir en dos mecanismos:

A) Mecanismo bienzimático. En el que se postula que en las condiciones de almacenamiento que conducen al endurecimiento del frijol, el ácido fítico es hidrolizado por la fitasa con lo cual se generan iones fosfato,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en el citoplasma de las células del cotiledón. Concomitante, en la lamela media la pectina metil esterasa hidroliza a la pectina a ácido péctínico y metanol. De alguna manera los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  viajan del citoplasma hacia la lamela media para producir pectatos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  los cuales son insolubles y restringen la separación de la lamela media durante el tratamiento térmico.

B) Mecanismo de lignificación de la lamela media. En este modelo se postula que durante el endurecimiento se producen pequeños peptidos que contienen aminoácidos aromáticos, estos últimos son utilizados para la síntesis

de polifenoles. Las sustancias fenólicas viajan hacia la pared celular donde son lignificados por la peroxidasa.

Ambos modelos han sido apoyados por los resultados de diversos investigadores y rechazados por los de otros (6, 14, 16, 17, 19, 26, 29, 31), y el consenso del área es que el mecanismo bienzimático parece dominar durante las primeras etapas del endurecimiento, mientras que el mecanismo de lignificación de la lamela media parece prevalecer durante los últimos períodos.

#### **1.1.4. Efecto del almacenamiento en la composición de la semilla del frijol.**

En estos estudios se cuantificaron los niveles de los compuestos cuya degradación o modificación estructural pudieran modificar las propiedades de las estructuras y macromoléculas que participan en el proceso de la cocción.

El contenido de ácido fítico (8), la cantidad de pectinas extraíbles y la termosensibilidad de las mismas es menor en frijol endurecido que en frijol control (7, 14).

El contenido de taninos solubles en metanol disminuye con el tiempo de almacenamiento (7), mientras que el contenido de ácidos fenólicos libres (ferulico, sinapico y p-cumarico) aumenta tanto en la cubierta de la semilla como en el cotiledón (60). La cantidad de cuerpos proteicos y de proteína soluble en NaCl disminuye a medida que el frijol se endurece (7), mientras que la cantidad de monosacáridos aumenta (22).

Los cambios de composición inducidos en el frijol durante el endurecimiento del grano se realizan tanto en pared celular como en citoplasma, lo que sugiere que en el fenómeno de endurecimiento participan tanto la pared celular como los componentes del citoplasma. Como antes se mencionó, el mecanismo de endurecimiento de frijol hasta ahora propuesto contempla la participación de la pared celular en el fenómeno y existe una amplia evidencia experimental apoyando esta participación. En contraste, la evidencia experimental que apoya la expectativa de que los componentes mayoritarios de las células del cotiledón, proteínas y almidón, también participan en el endurecimiento de frijol, es circunstancial y a continuación se describe:

1) semillas endurecidas presentan gelatinización limitada del almidón cuando estas se observan al microscopio (13, 64). 2) Al romperse los cuerpos proteicos y disminuir los contenidos de fitina, los niveles de fosfato y iones

inorgánicos aumentan en el citoplasma. En sistemas *in vitro* se ha demostrado que la temperatura de gelatinización del almidón y la temperatura de desnaturalización de proteínas varía con la composición iónica del medio (23, 32). 3) La digestibilidad del almidón y de las proteínas disminuye conforme aumenta el tiempo de almacenamiento (57, 62), lo que indica que la estructura de estas macromoléculas se ha modificado. 4) En frijol fresco (cultivar Ojo de Cabra) se ha demostrado que los gránulos de almidón están asociados a vesículas que contienen fenoles (18) y si durante el almacenamiento estas vesículas se rompen, su contenido quedaría libre a el citoplasma y disponible para interactuar con las macromoléculas presentes en este compartimento celular. Este tipo de modificación química podría explicar la disminución en la digestibilidad del almidón y de las proteínas observada en la semilla.

## II. OBJETIVOS.

El propósito de los experimentos realizados en este trabajo fué determinar:

- 1) La contribución del grado de estructuración e interacción del almidón y de las proteínas al tiempo de cocción de la semilla.
- 2) Las posibles modificaciones del grado de estructuración de estas macromoléculas durante el almacenamiento de semillas de frijol en condiciones adversas.

Ambos objetivos fueron explorados en dos cultivares de frijol, Michigan y Ojo de Cabra, con tiempos de cocción diferentes y cuantificados por Calorimetría Diferencial de Barrido. Esta metodología mide en forma precisa las propiedades térmicas de la semilla a través de registrar la temperatura de gelatinización del almidón y la desnaturalización de proteínas, así como la energía necesaria para realizar estos procesos.

El valor de estos parámetros reflejará si el grado de estructuración de estas biomoléculas contribuyen a la cocción y/o el endurecimiento de la semilla.

### **III. MATERIAL Y METODOS.**

#### **III.1. Material.**

**Material biológico.**- El material biológico que se empleó fué Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de las variedades Michigan (M) y Ojo de Cabra (OC). El frijol endurecido se obtuvo de la siguiente forma: Los frijoles Michigan y Ojo de Cabra se colocaron por separado en cámaras conteniendo una solución saturada de NaCl la cual proporciona una humedad relativa de 75%, las cámaras se incubaron a 30°C durante 30 días.

Las muestras control (Frescas) y las deterioradas (Endurecidas) se guardaron en frascos a 4°C hasta el momento de su utilización.

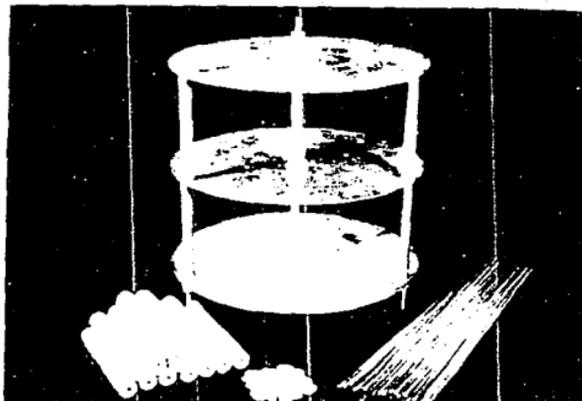
#### **III.2. EQUIPO.**

Calorímetro Diferencial de Barrido DSC7 Perkin Elmer. Encapsulador Hermético Dupont. Balanza Analítica Sartorius GMBH Göttingen. Estufa Precision Scientific Group. Termobalanza Digital Ohaus Modelo Brainweigh M301. Matzo.

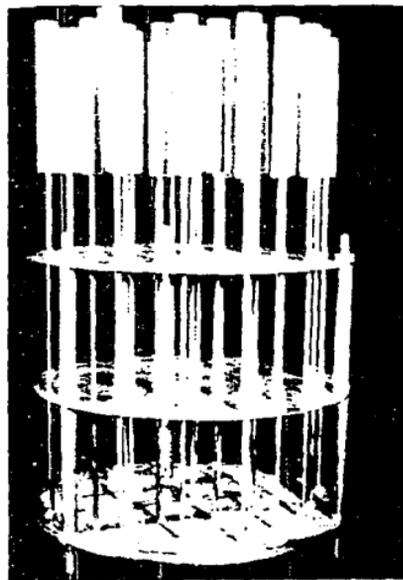
#### **III.3. METODOLOGIA.**

##### **III.3.1. Determinación de Tiempos de Cocción para las variedades Michigan y Ojo de Cabra .**

Para la determinación de los Tiempos de cocción se utilizó un Matzo (Figura 2) que consiste de tres platos planos metálicos redondos sobrepuestos. Cada plato tiene 25 perforaciones, el plato "base" en sus perforaciones cuenta con compartimentos convexos en los que se colocan los frijoles ayudando a que los granos permanezcan en un lugar fijo durante la cocción. Una vez colocados los frijoles, se hacen pasar unas varillas metálicas a través de cada perforación quedando estas encima de cada uno de los granos, a cada una de las varillas se les coloca una pesa cilíndrica en la parte superior aproximadamente de 195 gramos cada una, en el centro de uno de los extremos de estas pesas se encuentra una ranura que se sujeta a la varilla.



a)



b)

Figura 2. Matzo. a) Componentes del Matzo. b) Sistema montado en el Matzo.

Una vez montado el sistema, se introduce en agua en ebullición que cubre el sistema hasta el plato del centro. El tiempo de cocción de la semilla se cuenta a partir de este momento y hasta que cada una de las varillas cae y atraviesa el grano, el tiempo de cocción reportado es cuando todos los granos se han cocido. Con este equipo se determinó el tiempo de cocción para frijol fresco y deteriorado de dos variedades de frijol Michigan y Ojo de Cabra .

### **III.3.2. Análisis Térmico.**

En la década pasada, las técnicas de Termoanálisis han tenido un adelanto rápido y prominente en la investigación de alimentos (9). Estudios recientes destacan las aplicaciones del Análisis Térmico en el fenómeno de la energía relacionada en alimentos y sus constituyentes.

La ICTA (International Confederation for Thermal analysis) define al Termoanálisis (TA) como el grupo de técnicas que determinan los cambios en las propiedades físicas de una sustancia en función de la temperatura, bajo un programa de control de Temperatura.

Dentro de este grupo de técnicas se encuentra la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC- Differential Scanning Calorimetry) la cual se define (de acuerdo a la ICTA) como una técnica que mide la diferencia de energía que se le suministra a una muestra con respecto a un material de referencia, en función de la temperatura, sujetos a un programa de temperatura controlada (37, 41).

El DSC ha sido empleado para estudiar los tres biopolímeros mayores en alimentos: Proteínas, Almidón y Grasas, a los cuales se les determinan temperaturas de fusión, cambios de fase, temperaturas de deshidratación, etc. En investigación de alimentos, las transiciones como son la desnaturalización de proteínas, gelatinización del almidón y fusión de cristales de grasa pueden ser estudiadas por esta técnica así como estudios de estabilidad oxidativa de Lípidos y Pureza de Harinas (9, 41, 65).

En el presente trabajo se determinaron por DSC los parámetros termodinámicos de gelatinización del almidón (Tg), la desnaturalización de proteínas (Td) y la entalpía en estos procesos se obtuvo integrando el área bajo la curva (la computadora lo calcula directamente en J/g), en frijol fresco, así como, los cambios de estas propiedades inducidos por el almacenamiento del frijol.

### III.3.3.Preparación de las muestras para el Análisis Térmico.

Slurry (3). El significado literal de Slurry en español no se encuentra como tal, pero como tratamiento su significado es más comprensible y es Suspensión Acuosa Espesa. Mas adelante se menciona la forma de preparación, sin embargo para fines prácticos seguiremos haciendo referencia a este término.

Slurry para cotiledones secos.- A las semillas secas control y deterioradas de ambos cultivares, se les separó manualmente la testa y el eje embrionario. Los cotiledones se molieron en mortero manualmente con nitrógeno líquido. Con la harina obtenida se preparó una solución al 50 % (p/p) en agua destilada. Se pesó de 6 a 10 mg en paneles de aluminio por triplicado y se sellaron herméticamente. Se equilibraron a temperatura ambiente por dos horas y se determinaron sus curvas calorimétricas.

Slurry para cotiledones remojados.- Se remojaron frijoles control y deteriorado de ambos cultivares en agua destilada a 25°C durante 18 horas. Transcurrido este tiempo se desechó el agua y a los frijoles se les quitó el exceso de agua. Se separó manualmente la testa y el eje embrionario. Los cotiledones se molieron en mortero manualmente con nitrógeno líquido. Con la harina obtenida se preparó una solución al 50% (p/p) en agua destilada. Se pesó de 6 a 10 mg en paneles de aluminio por triplicado y se sellaron herméticamente. Se determinaron sus curvas calorimétricas.

Harina de Frijol Remojado (semilla).- A semillas de frijol se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con aproximadamente 100 ml de agua destilada, se taparon y se colocaron en una estufa a 25°C durante 18 horas. Transcurrido este tiempo se cortaron transversalmente, se extrajeron los ejes embrionarios y las testas y se desecharon. Los cotiledones se colocaron en un mortero, se agregó nitrógeno líquido y se molieron manualmente hasta la obtención de una harina muy fina. Se pesó entre 6 y 10 mg de muestra dentro de los paneles de aluminio, se taparon herméticamente y se procedió a determinar las curvas calorimétricas. Cada muestra se preparó por triplicado.

Harina de Cotiledones Remojados (cotiledón).- Los frijoles se cortaron transversalmente y se separó el cotiledón de la testa y el eje embrionario, los cotiledones se colocaron en un matraz erlenmeyer de 250 ml con aproximadamente 100 ml de agua destilada y se colocaron en una estufa a 25°C durante 18 horas. Transcurrido este tiempo se sacaron y se molieron en un mortero con nitrógeno líquido. Se pesaron las muestras por triplicado en

pánels de aluminio, se taparon herméticamente y se determinaron sus curvas calorimétricas.

### **III.3.4. Condiciones para la obtención de curvas calorimétricas.**

Cada pánel se colocó en las celdas del DSC7, en la celda de referencia se colocó un pánel vacío y se inició el programa de temperatura. Las condiciones utilizadas en cada caso fueron las siguientes:

H ( Velocidad de calentamiento ) = 20°C/ min.

Atmósfera = Nitrógeno.

Panel de Aluminio.

Sensibilidad empleada : 0.5 mcal/min, ó 0.000119 J/min.

m (Tamaño de muestra) = 6-10 mg.

Temperatura inicial = 25 ° C.

Temperatura final = 150 ° C.

### **III.3.5. Determinación de Humedad.**

El % de Humedad se determinó con la termobalanza a 102°C durante 15 minutos.

## IV. RESULTADOS

El tiempo de cocción para los dos cultivares estudiados se reportan en la Tabla 1. Las semillas del cultivar Michigan control y deteriorado presentaron un menor tiempo de cocción que las del cultivar Ojo de Cabra. Durante la cocción del frijol la dispersión de la población de semillas respecto al tiempo de cocción, fué mayor para Ojo de Cabra deteriorado que para Michigan deteriorado (Fig 3).

El comportamiento térmico de la semilla control y endurecida se estudió en los cotiledones de frijol sin remojo y con remojo, en exceso de agua y en condiciones de disponibilidad de agua restringida.

Para efectos de claridad, en la presentación de los resultados y la discusión las muestras preparadas con exceso de agua se denominarán "Slurry". En estas muestras se utilizaron semillas remojadas y secas.

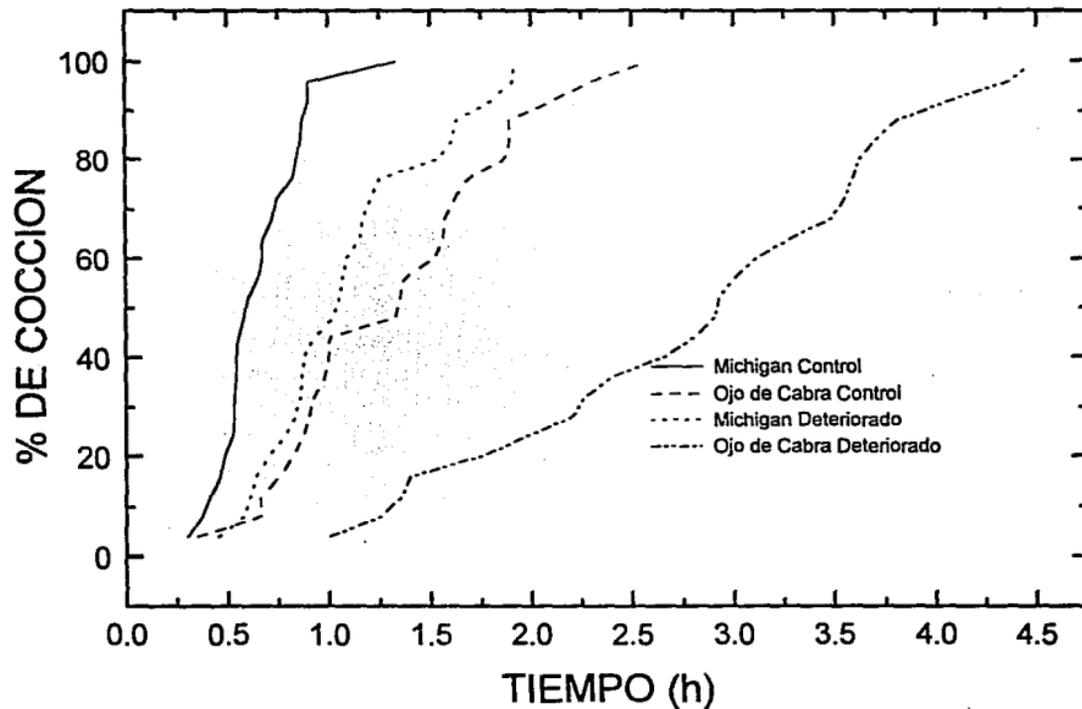
Las figuras 4 y 5 muestran el tipo de gráfica que se obtuvo cuando la determinación calorimétrica fué realizada en "slurry" con harina de cotiledones sin remojar. En todas las curvas calorimétricas se observaron cuando menos dos transiciones aunque diferentes en intensidad (Figs. 4 y 5). De acuerdo a lo reportado por otros autores, la transición a baja temperatura corresponde a la temperatura de gelatinización del almidón ( $T_g$ ) y la de mayor temperatura a la desnaturalización de proteínas ( $T_d$ ) (3, 65). El trazo de la curva fué similar para todas las condiciones que se utilizaron en este trabajo, aunque la amplitud de los picos varió y por tanto el de la entalpía ( $\Delta H$ ) de la transición.

El valor de ambos parámetros,  $T_d$  y  $T_g$ , fué menor en exceso de agua que en condiciones de disponibilidad restringida (Tabla 2 y 3). En exceso de agua y utilizando semilla sin remojar, la desnaturalización de las proteínas en los materiales control se realizó a mayor temperatura en Ojo de Cabra que en Michigan (Fig. 4A, Fig. 5A y Tabla 2). En este último cultivar el deterioro incrementó significativamente la  $T_d$  pero no tuvo efecto sobre la de Ojo de Cabra. En ambos casos, aparece un hombro en la señal de desnaturalización de proteínas (Fig. 4B y Fig. 5B). Cuando esta determinación se realizó con semilla remojada, y en exceso de agua la  $T_d$  fué similar para los dos cultivares control, y el deterioro no modificó este parámetro (Tabla 2). Sin embargo, en Ojo de Cabra el remojo disminuyó en forma significativa la  $T_d$  tanto para el lote control como para el deteriorado, mientras que en Michigan solo disminuyó la

**TABLA 1****TIEMPOS DE COCCION DE FRIJOL CONTROL Y DETERIORADO.**

MUESTRA	CONTROL	DETERIORADO
CULTIVAR	Tiempo en minutos	
Michigan	80	115
Ojo de Cabra	156	270

**Figura 3**  
**TIEMPOS DE COCCION**



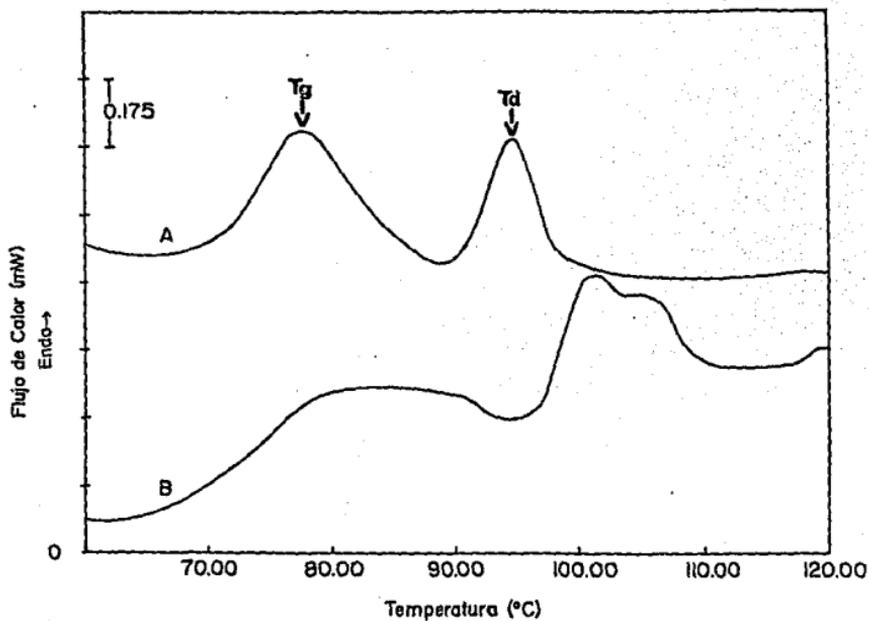


Figura 4. Curva Calorimétrica de Slurry de Harina seca de Frijol Michigan. La relación de frijol/agua fué de 1:1 (p/p). La velocidad de barrido fué 20° C/min. A) Control. B) Deteriorado.  $T_g$  = Temperatura de Gelatinización.  $T_d$  = Temperatura de Desnaturalización.

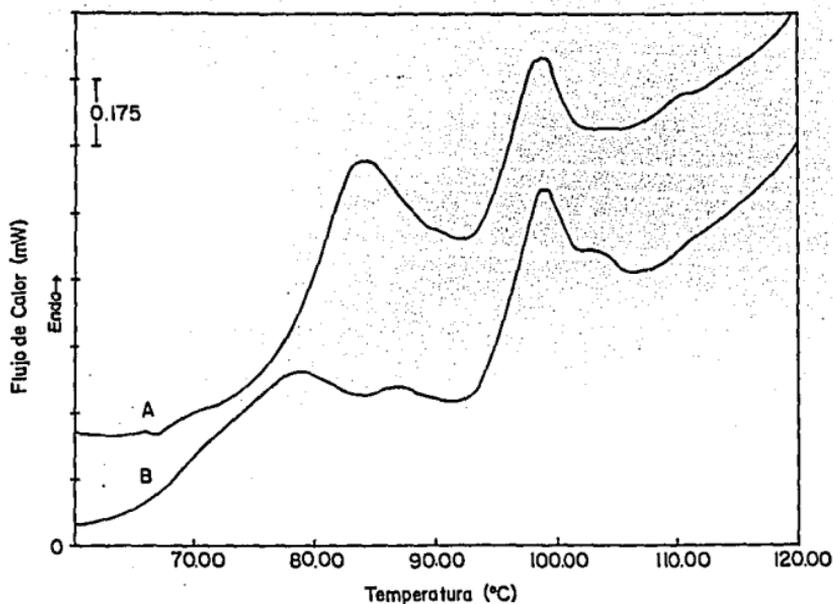


Figura 5. Curva Calorimétrica de Slurry de Harina seca de Frijol Ojo de Cabra. La relación de frijol/agua fue de 1:1 (p/p). La velocidad de barrido fue 20°C/min. A) Control. B) Deteriorado. La identidad de cada pico se muestra en la figura 4.

**Tabla 2.**

Temperaturas y entalpias de desnaturalización de proteínas en frijol remojado.

Cultivar	Condición	Relación agua/muestra	Temperatura de Desnaturalización (°C)		Entalpia de Desnaturalización (J/g)	
			Control	Deteriorado	Control	Deteriorado
Michigan	Slurry (seco)	1.0	94.75 <sup>a</sup>	100.17 <sup>c</sup>	1.28	1.86
	Slurry (remojado)	1.0	96.82 <sup>a</sup>	95.88 <sup>a</sup>	0.78	0.80
	Semilla	0.64	104.78 <sup>d</sup>	103.49 <sup>d</sup>	1.95	3.17
	Cotiledón	0.43	102.79 <sup>d</sup>	105.82 <sup>d</sup>	1.84	2.37
Ojo de Cabra	Slurry (seco)	1.0	98.46 <sup>b</sup>	99.18 <sup>b</sup>	1.14	1.52
	Slurry (remojado)	1.0	95.25 <sup>a</sup>	96.61 <sup>a</sup>	0.49	1.05
	Semilla	0.64	103.20 <sup>d</sup>	102.39 <sup>d</sup>	1.15	1.30
	Cotiledón	0.43	103.16 <sup>d</sup>	102.65 <sup>d</sup>	0.83	2.65

**Tabla 3.**

Temperaturas y entalpías de gelatinización del almidón en frijol remojado.

Cultivar	Condición	Relación agua/muestra	Temperatura de Gelatinización (°C)		Entalpia de Gelatinización (J/g)	
			Control	Deteriorado	Control	Deteriorado
Michigan	Slurry (seco)	1.0	77.69 <sup>a</sup>	80.75 <sup>c</sup>	2.20	2.60
	Slurry (remojado)	1.0	79.07 <sup>a</sup>	74.44 <sup>d</sup>	1.23	0.71
	Semilla	0.64	83.90 <sup>b</sup>	84.15 <sup>b</sup>	2.04	0.92
	Cotiledón	0.43	88.66 <sup>e</sup>	88.83 <sup>e</sup>	0.78	0.50
Ojo de Cabra	Slurry (seco)	1.0	83.36 <sup>b</sup>	79.33 <sup>a,c</sup>	1.58	1.62
	Slurry (remojado)	1.0	81.44 <sup>b,c</sup>	73.68 <sup>d</sup>	0.87	0.91
	Semilla	0.64	86.17 <sup>f</sup>	86.89 <sup>f</sup>	1.07	0.25
	Cotiledón	0.43	86.46 <sup>f</sup>	86.33 <sup>f</sup>	0.70	0.50

Números seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes a  $\alpha = 0.05$ .

la  $T_d$  de la semilla deteriorada (Tabla 2 y 3). Por su parte, el valor de  $T_g$  fué mayor en Ojo de Cabra control que en Michigan (Fig. 4A y Fig. 5A) y el remojo no modificó este parámetro (Tabla 3). El efecto del almacenamiento en la  $T_g$  dependió de si la semilla se remojo o no, previo a la preparación del slurry. En la semilla remojada de ambos cultivares, el almacenamiento produjo una disminución significativa en la temperatura de gelatinización con respecto a la semilla remojada y no almacenada, mientras que si el slurry se preparó con semilla seca, el almacenamiento aumentó la  $T_g$  para Michigan y la disminuyó para Ojo de Cabra. En frijol deteriorado la  $T_g$  fué mayor para la semilla seca que para la remojada independientemente del cultivar analizado.

Cuando el slurry se preparó con semilla seca, la entalpía de desnaturalización fué similar para ambos cultivares control (Tabla 2), y menor que la obtenida con semilla deteriorada. Ojo de Cabra deteriorado mostró un menor valor en este parámetro que Michigan en las mismas condiciones (Tabla 2).

La entalpía de gelatinización en semilla control y deteriorada remojada o no y determinada en exceso de agua fué mayor que la obtenida para la desnaturalización de las proteínas (comparar Tablas 2 y 3). La  $\Delta H_g$  fué mayor para Michigan deteriorado que para su respectivo control y que Ojo de Cabra control o deteriorado. En estos dos últimos lotes la  $\Delta H_g$  fué similar. El remojo de la semilla previo a la preparación del slurry disminuye notablemente la  $\Delta H_g$ . En estas condiciones el almacenamiento de la semilla disminuyó notablemente la entalpía de gelatinización ( $\Delta H_g$ ) respecto a su contraparte y no tuvo ningún efecto en Ojo de Cabra.

En condiciones de disponibilidad de agua restringida los valores de  $T_d$  y  $T_g$  se incrementaron respecto a las registradas en exceso de este líquido (Tablas 2 y 3), las curvas calorimétricas de las semillas del cultivar Michigan control, muestran dos señales en la región de gelatinización del almidón cuya definición fué ligeramente mayor cuando el remojo se realizó en presencia que en ausencia de testa (Fig. 6A y 7A). En cambio, en la semilla almacenada y disponibilidad restringida de agua se observó solo una señal pequeña y mal definida cuya  $T_g$  se registró dentro del rango de la del control. La  $T_d$  de este cultivar se modificó ligeramente con el almacenamiento de la semilla (Tabla 3) y su señal muestra un hombro hacia la región de menor temperatura (Fig. 6B), mientras que en ausencia la señal se desplaza ligeramente hacia mayores

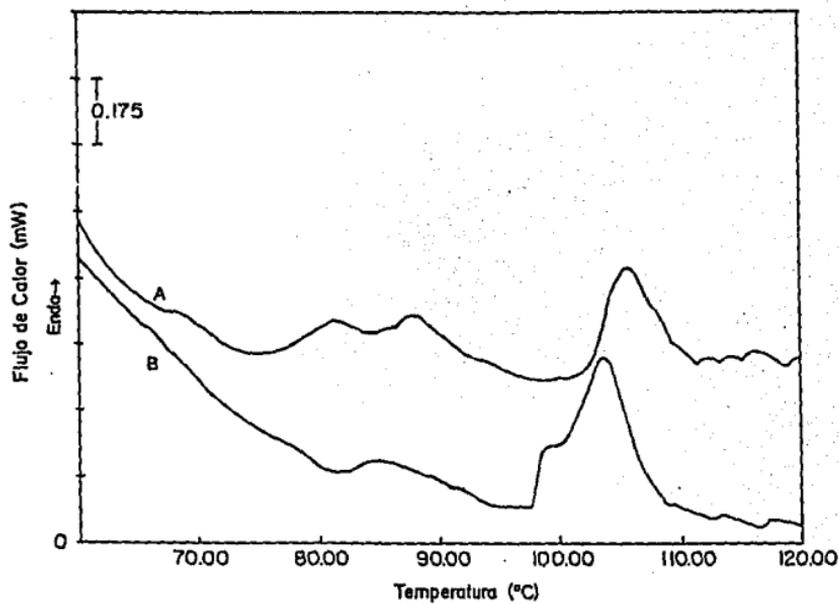


Figura 6. Curva Calorimétrica de Cotiledón aislado de Semilla Michigan Remojada. La relación de frijol/agua fué de 1:0.64 (p/p). La velocidad de barrido fué 20°C/min. A) Control. B) Deteriorado. La identidad de cada pico se muestra en la figura 4.

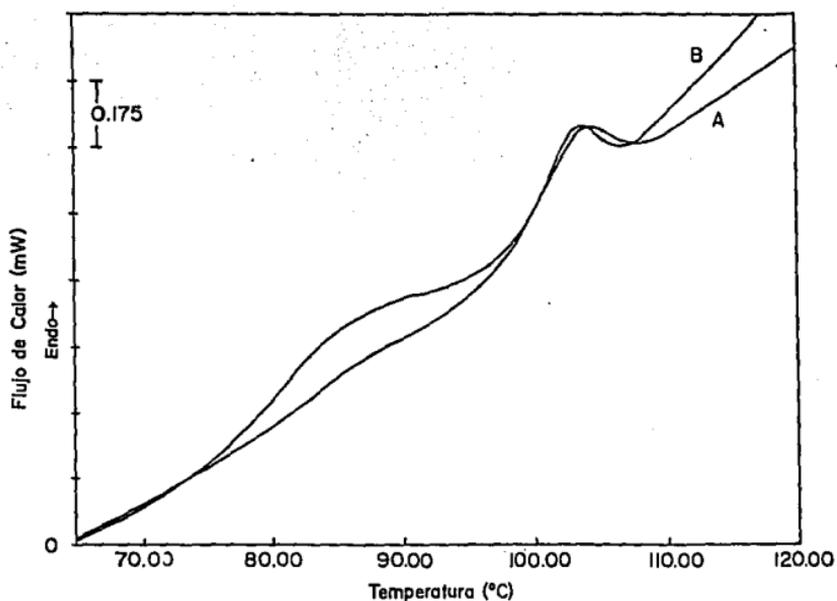


Figura 7. Curva Calorimétrica de Cotiledón Remojado sin Testa de Frijol Michigan. La relación de Harina de frijol/agua fué de 1:0.43 (p/p). La velocidad de batrido fué 20°C/min. A) Control. B) Deteriorado. La identidad de cada pico se muestra en la figura 4.

temperaturas que su respectivo control (Fig. 7). Las curvas calorimétricas obtenidas con Ojo de Cabra control también muestran dos señales y los trazos de las curvas aunque de menor definición fueron similares cuando el remojo de la semilla se realizó en presencia o ausencia de testa (Fig. 8A y 9A). Cuando la semilla almacenada se embebió en presencia de la testa la fracción de almidón gelatinizado disminuyó notablemente, como lo indica el hecho de que prácticamente no haya señal en la región de gelatinización del almidón, mientras que en ausencia de esta cubierta, la gelatinización del almidón se realizó en un amplio rango de temperaturas, lo cual se evidencia como discretos picos en la región de gelatinización (Fig. 9B).

La desnaturalización de proteínas se realizó a la misma temperatura independientemente del cultivar, de si la testa estaba presente o no, o de si se determinó en lote control o deteriorado (Tabla 2). Por su parte, la gelatinización del almidón se realizó a menor temperatura en Michigan control que en Ojo de Cabra control y la presencia de testa incrementa este parámetro en el primer cultivar pero no en el último. El deterioro no modificó en forma significativa las Tg para ninguno de los casos estudiados (Tabla 3).

En semilla, el valor de  $\Delta H_g$  fué mayor en Michigan que en Ojo de Cabra y para cada cultivar el valor de este parámetro fué mayor en control que en deteriorado. En el caso del cotiledón la entalpia de gelatinización fué muy pequeña y similar para todos los tratamientos y cultivares (Tabla 3).

En general, la entalpia de desnaturalización de proteínas ( $\Delta H_d$ ) en condiciones de agua restringida fué mayor en frijol deteriorado que en control (Tabla 2).

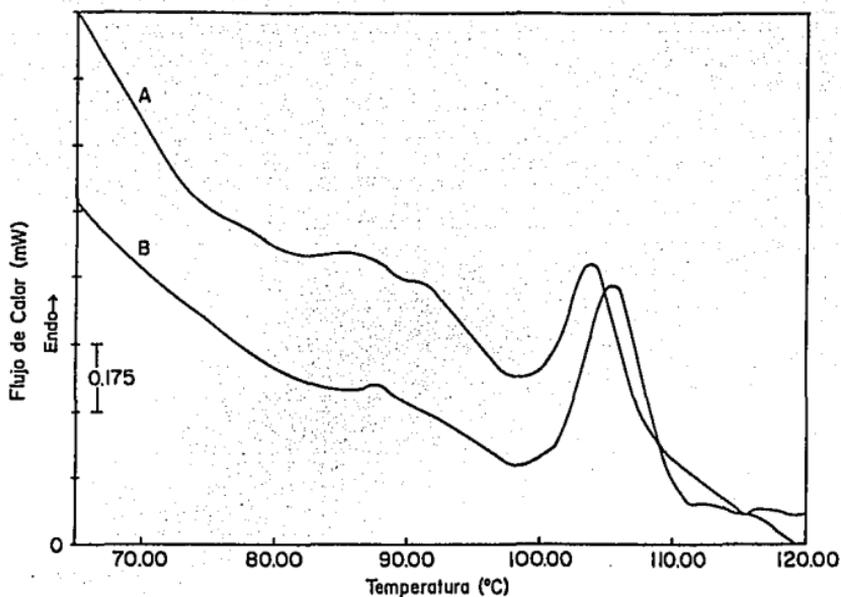


Figura 8. Curva Calorimétrica de Cotiledón aislado de Semilla de Frijol Ojo de Cabra Remojada. La relación de Harina de frijol/agua fué de 1:0.64 (p/p). La velocidad de barrido fué 20°C/min. A) Control. B) Deteriorado. La identidad de cada pico se muestra en la figura 4.

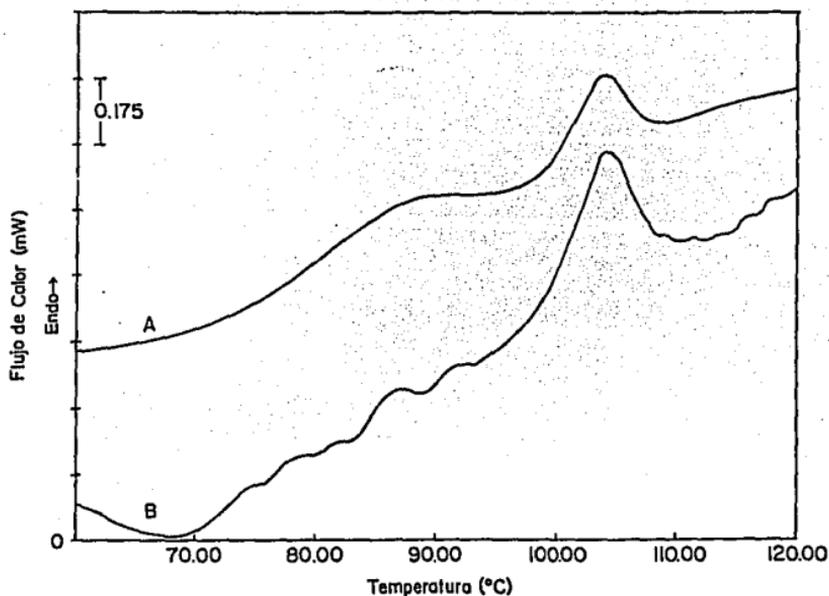


Figura 9. Curva Calorimétrica de Cotiledón Remojado sin Testa de Frijol Ojo de Cabra. La relación de Harina de frijol/agua fué de 1:0.43 (p/p). La velocidad de barrido fué 20°C/min. A) Control. B) Deteriorado. La identidad de cada pico se muestra en la figura 4.

## V. DISCUSION

El proceso de cocción de la semilla de frijol se realiza en dos etapas, el remojo y el tratamiento térmico. En esta última se pueden distinguir tres eventos de orden-desorden como son: solubilización de las pectinas localizadas en la pared celular, gelatinización del almidón y desnaturalización de las proteínas del citoplasma. Estas transiciones de orden-desorden contribuyen de manera fundamental a que la semilla adquiera las características de palatabilidad (textura y sabor) exigidas por el consumidor (49).

El tiempo de tratamiento térmico que tarda la semilla en adquirir la palatabilidad adecuada se le denomina tiempo de cocción el cual es diferente para diversos cultivares, y es mayor en frijol almacenado que en fresco (43). Lo anterior podría deberse a diferencias en la facilidad con la que se realizan las transiciones térmicas de las macromoléculas involucradas, durante la cocción. Esta facilidad podría estar dada por el grado de estructuración y/o de composición de las mismas. Para demostrar esta hipótesis se cuantificó el grado de estructuración del almidón y de las proteínas a través de determinar sus propiedades térmicas ( $T_g$ ,  $T_d$  y  $\Delta H$ ). El estudio se hizo en dos lotes, fresco y almacenado de dos cultivares de frijol que presentan diferencias en sus tiempos de cocción. Para mayor facilidad y claridad, los resultados se discutirán en dos secciones.

1.- Contribución de las propiedades térmicas de las semillas al tiempo de cocción del frijol control.

La temperatura de gelatinización está relacionada con las características moleculares del almidón y con los constituyentes iónicos y no iónicos presentes durante la gelatinización. Por ejemplo, la  $T_g$  se incrementa al aumentar la estructuración del almidón la cual aumenta al aumentar el contenido de amilosa del gránulo de almidón o cuando la gelatinización se realiza en presencia de azúcares y sales tales como  $HPO_4^{=}$ .

La temperatura de gelatinización del almidón fué mayor en Ojo de Cabra, el cultivar con mayor tiempo de cocción, que en Michigan, el cultivar con menor tiempo de cocción.

Los resultados anteriores pueden explicarse a través de proponer que en la semilla seca los gránulos de almidón del cultivar Ojo de Cabra poseen una

mayor estructuración y por tanto presentan una mayor Tg que los de Michigan y/o a que el contenido de moléculas de bajo peso molecular, que influyen negativamente en el valor de Tg, es mayor en Ojo de Cabra que en Michigan.

En esta misma condición de exceso de agua, la energía total del proceso orden-desorden, expresado como la suma de  $\Delta H_g$  y  $\Delta H_d$ , fué mayor en las semillas control sin remojar de Michigan que en las de Ojo de Cabra. Estas diferencias se deben principalmente a que el  $\Delta H_g$  de Michigan es mucho mayor que el de Ojo de Cabra (Tabla 3).

El tamaño del grano de almidón, el grado de gelatinización, y la velocidad de calentamiento influyen en los valores de  $\Delta H_g$  (40). La mayor entalpia de gelatinización del almidón del cultivar Michigan podría deberse al hecho de que los granos de almidón de este cultivar son mayores que los de Ojo de Cabra (18) y/o a que el contenido de almidón por gramo de semilla fuese mayor para Michigan que para Ojo de Cabra. Aparentemente, en ambos cultivares y en estas condiciones de exceso de agua, se realizó el 100% de gelatinización del almidón, puesto que su valor no se modifica al disminuir la velocidad de calentamiento de la muestra.

La desnaturalización de las proteínas en exceso de agua, de la semilla seca del cultivar Ojo de Cabra se inicia a una temperatura mayor que en el cultivar Michigan sugiriendo que en la semilla seca del primer cultivar las proteínas, al igual que el almidón, están más estructuradas y requieren mayor temperatura para iniciar la transición orden-desorden que en el caso de Michigan. Sin embargo, otros autores han reportado que las proteínas aisladas de diferentes cultivares de frijol presentan propiedades térmicas similares, por lo que las diferencias en Td de los cultivares reportadas en este trabajo, podrían explicarse si en el caso de Ojo de Cabra las proteínas estuvieran interaccionando *in situ* con algún tipo de biomoléculas que disminuyeran su sensibilidad térmica, como sería el caso de los fenoles. En el citoplasma de las células de los cotiledones se encuentran vesículas que en su interior contienen material que por sus características de tinción se han identificado como fenoles (18). La interacción entre estos fenoles y las proteínas resultaría en una mayor estabilidad térmica de las macromoléculas y por tanto presentarían una mayor Td.

**Tabla 4.**

Entalpia Total del Proceso Térmico en Frijol.

Cultivar	Condición	Relación agua/muestra	Entalpia Total del Proceso (J/g)	
			Control	Deteriorado
Michigan	Slurry (seco)	1.0	3.48	4.46
	Slurry (remojado)	1.0	2.01	1.51
	Semilla	0.64	3.99	4.09
	Cotiledón	0.43	2.62	2.87
Ojo de Cabra	Slurry (seco)	1.0	2.72	3.14
	Slurry (remojado)	1.0	1.72	1.96
	Semilla	0.64	2.22	1.55
	Cotiledón	0.43	1.53	3.15

El remojo de la semilla no modificó la estructuración del almidón para ninguno de los cultivares, puesto que la Tg de ambos cultivares con y sin remojo no varió. Este proceso de hidratación facilitó la desnaturalización térmica de las semillas del cultivar Ojo de Cabra como lo indica el hecho de que en este cultivar la Td sea mayor en semilla seca (98.46°C) que en semilla remojada (95.25°C), mientras que en Michigan la Td es similar en ambas condiciones. Estos efectos se reflejaron en una disminución del  $\Delta H$  total respecto al observado con la semilla seca (Tabla 4). Este tipo de resultado podría deberse a que en ambas condiciones, sin remojo y con remojo, las macromoléculas presentan un grado de hidratación diferente o bien a que durante esta fase del proceso de cocción del frijol se realizan eventos químicos y/o enzimáticos que modifican la estructura de los granos de almidón, (¿disminución en el contenido de amilosa?), y de las proteínas de reserva (¿menor agregación?, ¿disminución en el peso molecular?), en forma tal que la transición térmica se facilitara. Apoyo adicional a esta interpretación lo constituyen los estudios de movilización de reservas durante la germinación de semillas (7). durante la cual se ha demostrado que tanto el almidón como las proteínas de reserva se hidrolizan por la acción de amilasas y proteasas, respectivamente, las cuales son activadas o de novo sintetizadas como respuesta al aumento en el contenido de humedad de la semilla.

Cuando la determinación se realizó en contenido restringido de agua, la sensibilidad térmica de las macromoléculas disminuyó y esta disminución se reflejó en una mayor Tg y Td, sin embargo el contenido de humedad de estas muestras (semilla y cotiledón) fué suficiente para que se realizara la transición térmica tanto del almidón como de las proteínas. Esto lo indica el hecho de que el  $\Delta H$  total del proceso en semilla remojada, es similar en exceso o contenido restringido de agua (Tabla 4, comparar slurry remojado control, semilla y cotiledón).

Los resultados hasta aquí discutidos muestran claramente que el tiempo de cocción del frijol control esta directamente relacionado a las propiedades térmicas de la semilla y por tanto al grado de estructuración del almidón y de las proteínas.

## 2.- Efecto del almacenamiento en las propiedades térmicas de la semilla.

El almacenamiento modifica en forma negativa las propiedades térmicas de la semilla seca de frijol, como lo denota el hecho de que la energía de la

transición orden-desorden ( $\Delta H_d + \Delta H_g$ ) en exceso de agua es mayor en estas muestras que en los respectivos controles (Tabla 4). A este aumento contribuyen de forma muy importante en ambos cultivares, los cambios inducidos en la fracción de proteínas que resultan en un incremento de su  $\Delta H_d$ . Entre los cambios que se pudiesen inducir en las proteínas durante el deterioro están una modificación en la agregación de las proteínas ya sea por la formación de enlaces covalentes (puente disulfuro) ó por una disminución en el peso molecular de las mismas lo que permitiría la formación de estructuras más estables, o bien por interacción con otras moléculas presentes en el citoplasma, por ejemplo carbohidratos.

Durante el almacenamiento de las semillas, en ambos cultivares, las propiedades térmicas del almidón también se ven modificadas. El mayor  $T_g$  y  $\Delta H_g$  observado en Michigan deteriorado respecto del control, sugiere que en el primero la gelatinización del almidón se realiza en una mayor concentración de biomoléculas que disminuyen la sensibilidad térmica del almidón. Entre estas se encuentran la glucosa y los iones fosfato (40), cuyos niveles se incrementan durante el deterioro del frijol (22). En el caso de Ojo de Cabra, el deterioro aparentemente no modifica las propiedades térmicas del almidón.

El efecto negativo del deterioro en las propiedades térmicas de las macromoléculas también se observa en la semilla remojada, aunque de forma un poco distinta. El remojo de la semilla deteriorada, disminuye la estructuración de las macromoléculas favoreciendo su transición orden-desorden. Esto se refleja en el hecho de que los parámetros termodinámicos fueron menores en semilla deteriorada remojada y exceso de agua que la observada en semilla deteriorada seca y exceso de agua.

En semillas deterioradas y remojadas la transición se realizó con disponibilidad restringida de agua (40). Para el caso de Michigan el aumento de contenido de humedad de la semilla durante el remojo parecería ser suficiente para realizar la transición total de las macromoléculas ya que el  $\Delta H$  global del proceso fué similar a el registrado en el Slurry (Tabla 4). Esto contrasta con lo observado en Ojo de Cabra donde la entalpía global del proceso fué menor que lo observado en exceso de agua. En estos casos el grado de hidratación de las macromoléculas parecería ser insuficiente para realizar su transición térmica. En condiciones de agua restringida y en este cultivar, aparentemente el deterioro disminuye la sensibilidad térmica del almidón y de las proteínas ya

que la  $T_g$  y la  $T_d$  permanecen constantes, pero solo una fracción del almidón gelatinizado en los controles gelatiniza en el deteriorado. Aparentemente esta disminución en la gelatinización del almidón induce una mayor dificultad en la desnaturalización de las proteínas las cuales requieren de una mayor energía para realizar la transición.

De lo expuesto en esta sección podemos concluir que el almacenamiento de semilla de frijol en condiciones de alta humedad y temperatura inducen un cambio en las propiedades térmicas de las semillas especialmente en proteínas las cuales disminuyen su sensibilidad térmica.

Esto trae como consecuencia que la transición orden-desorden requiera mayor energía y por tanto el proceso de cocción se realice en un tiempo mayor.

## VI. CONCLUSIONES

1.- En semillas control el grado de estructuración del almidón y de las proteínas fué mayor en el cultivar Ojo de Cabra al igual que un mayor tiempo de cocción que el cultivar Michigan.

2.- El efecto del almacenamiento en las propiedades térmicas de la semilla depende de si se estudia en semilla seca o remojada. En la primera condición el deterioro incrementó el grado de estructuración de las macromoléculas. Este efecto es opuesto al observado en semilla remojada, donde el deterioro no modifica el grado de estructuración de las proteínas, aún mas, favorece en forma importante la sensibilidad térmica del almidón.

3.- En la mayoría de los casos el  $\Delta H$  total del proceso fué mayor para Michigan que para Ojo de Cabra. A este resultado contribuyó el hecho de que los granos de almidón son mayores en Michigan que en Ojo de Cabra.

4.- Las propiedades térmicas de la semilla control están asociadas directamente al tiempo de cocción de la misma.

5.- Las propiedades térmicas de la semilla se modificaron negativamente con el almacenamiento, pero su efecto en el tiempo de cocción se nulifica por el remojo.

## VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- **Atkins, P.W.** 1991. Físicoquímica. Tercera edición. Editorial Addison Wesley Iberoamericana S.A. Wilmington, Delaware, E.U.A. pp 56-58.
- 2.- **Aguilera, J.M. y Steinsapir, H.** 1985. Dry processes to retard quality losses of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) during storage. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **18**: 72-78.
- 3.- **Arntfield, S.D. and Murray, E.D.** 1981. The influence of processing parameters on food protein functionality I. Differential scanning calorimetry as an indicator of protein denaturation. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **14** (4): 289-294.
- 4.- **Augustin, J., Beck, C.B., Kalbfleish, G., Kagel, L.C. and Matthews, R.H.** 1981. Variation in the vitamin and mineral content of raw and cooked commercial *Phaseolus vulgaris* classes. *J. Food Sci.* **46**: 1701-1706.
- 5.- **Badui Dergal, S.** 1985. Química de los alimentos. 5ª reimpression. Editorial Alhambra. México. pp 105-158.
- 6.- **Bernal-Lugo, I., Castillo, A., Díaz de León, F., Moreno, E. and Ramirez, J.** 1991. Does phytic acid influence cooking rate in common beans? *J. Food Biochem.* **15**: 367-374.
- 7.- **Bernal Lugo y col.** 1993. Datos no publicados.
- 8.- **Bernal-Lugo, I., Prado, G., Parra, C., Moreno, E., Ramirez, J. y Velazco, O.** 1990. Phytic acid hidrolisis and bean susceptibility to storage induced hardening. *J. Food Biochem.* **14**: 253-261.
- 9.- **Biliaderis, C.G., Page, C.M., Maurice, T.J. and Juliano, B.O.** 1986 Thermal characterization of rice starches: A polymeric approach to phase transitions on granular starch. *J. Agric. Food Chem.* **34**: 6-14.
- 10.- **Biliaderis, C.G., Page, C.M., Slade, L., Sirett, R.R.** 1985. Carbohydrates. *Polim.* **5**: 367.
- 11.- **Bressani, R.** 1989. Revisión sobre la calidad del frijol. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* **39** (3): 419-441.
- 12.- **Burr, H.J., Kon, S. and Morris, H.J.** 1968. Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content and temperature and time of storage. *Food Technology.* **23**: 336-338.

- 13.- **Carabez-Trejo, A., Paredes-López, O. and Reyes-Moreno.** 1989. Hard-to-cook (HTC) phenomén in common beans. Influence of growing location and HTC acelerated procedures. *International Journal of Food Sci. and Technol.* **24**: 535-542.
- 14.- **Castillo Martínez Alicia.** 1990. Participación del ácido fítico, pectinas y proteínas en la velocidad de cocción del grano del frijol. Tesis. ENEP Iztacala.
- 15.- **Charley, H.** 1987. Tecnología de alimentos. Primera edición. Editorial Limusa. México. Cap. 26. pp 623-636.
- 16.- **De León, L.F., Bressani, R. y Elías, L.G.** 1989. Efecto de la cascara sobre el mecanismo de endurecimiento del frijol común. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* **39 (3)**: 405-418.
- 17.- **Díaz de León Sanches Fernando.** 1989. Relación entre el grado de metilación de la pectina y el tiempo de cocción de algunas variedades de frijol. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- 18.- **Esquivel, C., López, L., Márquez, J., Mateos, G. y Bernal-Lugo, I.** 1992. Chemical composition structure of two mexican beans (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars in relation to cooking time. *Inter. J. Experimental Botany.* **53 (2)**: 143-153.
- 19.- **Esquivel Fernandez Rosa María.** 1984. Estudios sobre el endurecimiento del frijol almacenado. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- 20.- **Evans, M.T.A., Phillips, M.C. and Jones, M.N.** 1979. The conformation and aggregation of bovine  $\beta$ -casein A. II. Thermodynamics of thermal association and the effects of changes in polar and apolar interactions on micellization. *Biopolymers.* **18**: 1123.
- 21.- **García-Vela, L.A., and Stanley, D.W.** 1989. Protein denaturation and starch gelatinization in hard-to-cook beans. *J. Food Sci.* **54 (5)**: 1284-1286, 1292.
- 22.- **González, S.** 1994. Efecto del deterioro en los niveles de biomoléculas que participan en la protección del estado seco de la semilla de *Phaseolus vulgaris*. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- 23.- **Gough, B.M. and Pybus, J.M.** 1973. Effect of metal cations on the swelling and gelatinization behaviour of large wheat starch granules. *Die starke.* **25**: 123-130.
- 24.- **Hahn, D.M., Jones, F.T., Akhavan, I. and Rockland, L.B.** 1977. Light and scanning electron microscope studies of dry beans: intracellular

gelatinization of starch in citledons of large lima beans (*Phaseolus Lunatus*). *J. Food Sci.* **42** (5): 1208-1212.

25.- Haslam, E. 1981. Vegetable tannins on biochemistry of plants. A comprehensive treatiseled. Stumpf P.K. y Conn E. Vol. 7. Academy Press.

26.- Hohlberg, A.I. and Stanley, D.W. 1987. Hard-to-cook defect in black beans. Protein and starch considerations. *J. Agric. Food Chem.* **35**: 571-576.

27.- Hohlberg, A.I. and Stanley, D.W. 1987. Kinetics of bean protein thermal denaturation. *J. Food Prossesing and Preservation.* **11**: 31-42.

28.- Hulse, J.H., Rachle, K.O. and Billingsley, L.W. 1977. Nutritional standars and methods of evaluation for legume. Dreeders, Ottawa, Canada. IDRC.

29.- Jackson, G.M. and Varriano-Marston, E. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: effects of accelerated storage on water absortion and cooking time. *J. Food Sci.* **46**: 799-803.

30.- Jaffé, W.G. and Brucher, D. 1983. The cause of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* following adverse storage conditions. *J. Food Sci. and Tech.* **48**: 446-448.

31.- Jones, P.M.B. and Boulter, D. 1983. The caused of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* followin adverse storage conditions. *J. Food Sci.* **48**: 623-626, 649.

32.- Kohyama, K. and Nishinari, K. 1991. Effect of soluble sugars on gelatinization and retrogradation of sweet potato starch. *J. Agric. Food Chem.* **39**: 1406-1410.

33.- Kon, S. 1968. Pectin substances of dry beans end their possible correlation with cooking time. *J. Food Sci.:* **33**: 437-438.

34.- Kon, S. 1979. Effect of soaking temperature on cooking and nutritional quality of beans. *J. Food Sci.* **44**: 1329-1340.

35.- Lethan, D.S. 1962. Separation of cell wall with hexameta phosphate and nature of the intracellular bonding. *Cell Reseach.* **27**: 352-357.

36.- Liuk, Mcwatters, H.K. and Phillips, R.D. 1992. Protein insolubilization and thermal destabilization during storage as related to hard-to-cook defect in cowpeas. *J. Agric. Food Chem.* **40**: 2483-2487.

37.- Lombardi, G. 1980. For better thermal analysis. ICTA. Segunda edición. pp 18-20.

- 38.- Loomis, W.D. 1974. Overcoming problems of phenolic an quinones in the isolation of plant enzymes and organelles. In: methods in enzymology. Vol. XXXI. S. Fleicher and L. Parcker (Eds). pp 528-548. Academic Press, New York, NY.
- 39.- Lu, C.L., Hsu, K.H. and Wilson, L.A. 1984. Quality attributes and retention of selected B-vitamins of canned faba bean as affected by soaking treatments. *J. Food Sci.* **49**: 1053-1056.
- 40.- Lund, D. 1984. Influence of time, temperature, moisture, ingredients and processing conditions on starch gelatinization. *Food Sci. and Nutrition.* **20**: 4.
- 41.- Lórant, B. 1979. Reaction kinetics. *Differential Thermal Analysis.* **2** (44): 495-520. Edited by McKenzie, R.C.
- 42.- Moreno. 1991. El endurecimiento del frijol. *Gaceta UNAM.*
- 43.- Moreno, E. y Ramírez, J. 1987. Comportamiento de siete variedades del frijol almacenado bajo diferentes temperaturas. Turrialba, Costa Rica. *37*:155-160.
- 44.- Muciño Raymundo Silvia. 1989. Efecto del endurecimiento acelerado sobre el contenido de los iones Ca y Mg y ácido fítico en frijol. Tesis. Facultad de Química. UNAM.
- 45.- Murray, E.D., Arntfield, S.D. and Ismond, M.A.H. 1985. The influence of processing parameters on food protein functionality II. factors affecting thermal properties as analyzed by differential scanning calorimetry. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **18** ( 2 ): 158-162.
- 46.- Onuora, J.O. and King, R.D. 1984. Thermal transitions of melón seed proteins. *Food Chem.* **13**: 309-316.
- 47.- Privalov, P.L. and Khechinashvili, N.N. 1974. A thermodynamic approach to the problem of stabilization of globular protein structure: a calorimetry study. *J. Mol. Biol.* **86**: 665.
- 48.-Puszati, A., Clarice, E.M.W., King, T.P. and Stewaert, J.C. 1979. Nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) chemical composition, lectin content and nutritional value of select cultivares. *J. Food Sci.* **44**
- 49.- Quast, D.C. and Da Silva, S.D. 1977. Temperature dependence of the cooking rate of dry legumes. *J. Food Sci.* **42**:370-374.

- 50.- Ramos, G.R. 1985. Alimentación normal en niños y adolescentes. Ed El manual Moderno. México. pp. 307-314.
- 51.- Rao, M.A., Lund, D.B. 1977. Kinetic of thermal softening of foods: a review. *J. Food Proc. and Preserv.* **10**: 370-374.
- 52.- Reddy, N.R., Sathes, K. and Salunkhe, D.K. 1982. Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Research.* **28**: 1-91.
- 53.- Reyes Moreno, C. y Paredes-López, O. 1992. Endurecimiento del frijol común. *Cuadernos de Nutrición.* **15 (2)**: 17-32.
- 54.- Rockland, L.B. and Jones, F.T. 1974. Scanning electron microscope studies on dry beans: effects of cooking on the cellular structure of cotyledons of rehydrated large lima beans. *J. Food Sci.* **39**: 342-346.
- 55.- Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D.W. 1979. Effects of storage time and conditions on the hard-to-cook defect in cowpeas (*Vigna unguiculata*). *J. Food Sci.* **44**: 790-796.
- 56.- Sgarbieri, V.C., Antunes, P.L. y Almeida, L.D. 1979. Nutritional evaluation of four varieties of beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* **44**: 1306.
- 57.- Sgarbieri, V. and Whitaker, J.R. 1982. Physical, chemical and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. *Adv. Food Research.* **28**: 93-166.
- 58.- Shomer, I., Paster, N., Lindner, P. and Vasiliver, R. 1990. The role of cell wall structure in the hard-to-cook phenomenon in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Structure.* **9**: 139-149.
- 59.- Sosulski, F.W., Hoover, R., Tyler, R.T., Saskatoon and Murray, E.D. 1985. Differential scanning calorimetry of air-classified and protein fractions from eight legume species. *Starch/Stärke.* **37 (8)**: 257-262.
- 60.- Srisuma, N., Hammerschmidt, R., Vebarsax, M.A., Ruengsakulrach, S., Bennink, M.R., Hosfield, G.L. 1989. Storage induced changes of phenolic acids and the development of hard-to-cook in dry beans (*Phaseolus vulgaris*, Var. Seafarer). *J. Food Sci.* **54**: 311-314, 323.
- 61.- Stanley, D.W. and Aguilera, J.M. 1985. A review of textural defects in cooked reconstituted legumes the influence of structure composition. *J. Biochem.* **9**: 277-323.
- 62.- Valle-Vega, p., Nieto Villalobos, Z., Alvarez-Rios, J., Verdejo-Cross, V. y Bernal-Lugo, I. 1990. Efectos del envejecimiento acelerado sobre

factores antinutricionales en frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Ciência é tecnologia de alimentos*. **10**: 1-22.

63.- Vandiola, D.L., Seib, P.A. and Hosney, H.C. 1986. Accelerated development of the hard-to-cook state in beans. *Cereal Foods World*. **31**: 538-552.

64.- Varriano-Marston, E. and Jackson, G.M. 1981. Hard-to-cook phenomenon in beans: structural changes during storage and imbibition. *J Food Sci*. **46**: 1379-1385.

65.- Wriqth, D.J. and Boulter, D. 1980. Differential scanning calorimetry study of meals and constituents of some food grain legumes. *J. Sci. Food Agric*. **31**: 1231-1241.

66.- Zeleznak, K.J. and Hosney, R.C. 1987. The glass transition in starch. *Cereal Chem*. **64** (2): 121-124.