



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA, LECTINAS, ÁCIDO  
FÍTICO Y TANINOS EN POBLACIONES NATIVAS DE  
FRIJOL DEL SURESTE DEL ESTADO DE MÉXICO.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

ESTELI NILOVNA ESPINOSA PÉREZ



MÉXICO D.F



2009.

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA



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.

---

## *Jurado Asignado*

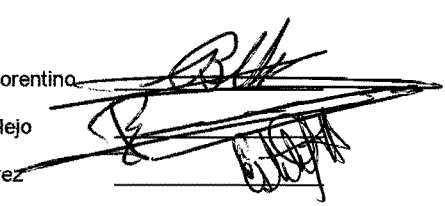
PRESIDENTE: Profesor. Bernardo Lucas Florentino  
VOCAL: Profesora. Lucia Cornejo Barrera  
SECRETARIO: Profesora. Bertha Julieta Sandoval Guillén  
1er. SUPLENTE: Profesor. Juan Carlos Ramírez Orejel  
2do: SUPLENTE: Profesor. Armando Conca Torres

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: Laboratorio 111, Departamento de Farmacia, Conjunto E Facultad de Química.

ASESOR DEL TEMA: M. en C. Bernardo Lucas Florentino

SUPERVISOR TÉCNICO: P.H.D. Porfirio Ramírez Vallejo

SUSTENTANTE: Esteli Nilovna Espinosa Pérez

The bottom right of the page contains several handwritten signatures and stamps. A large signature, possibly 'B.L.F.', is written over the 'ASESOR DEL TEMA' line. Below it, another signature is written over the 'SUPERVISOR TÉCNICO' line. To the right of these signatures, there are two rectangular stamps, one above the other, containing illegible text.

---

## *Agradecimientos*

A todas las personas que participaron e hicieron posible este proyecto,  
muchas gracias por su apoyo y enseñanza:  
M. en C. Bernardo Lucas Florentino, asesor,  
Ph. D. Porfirio Ramírez Vallejo, asesor externo,  
Q.F.B. Leticia Gil Vieyra, asesor técnico,  
Sra. Vicky, asistente del laboratorio,  
Sin ustedes no hubiera sido posible...

A la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química  
y Colegio de Post-graduados de Chapingo,  
gracias por apoyar este proyecto y permitirnos la realización de esta Tesis.

Papá, Eduardo Espinosa Pérez

Detrás de este logro estas tú, tu apoyo, confianza y cariño.

Nada podría ser mejor: Gracias por darme la oportunidad de hacer realidad  
este sueño compartido, por alentarme a hacer lo que quiero y ser como soy.

Te quiero con todo mi corazón.

Mamá, Felipa Susana Pérez Pérez

Por ser mi mejor amiga, mi aliada, mi ejemplo,

Gracias por todo el apoyo en esta tesis y gracias por compartir mi vida  
y mis logros, que esta sea la recompensa a tantos años de entrega,

desvelos y apoyo, esta tesis también es tuya.

---

## *Agradecimientos*

Miguel

Tú, fuiste testigo del trabajo que costó esta tesis, en todo momento me diste ánimo para seguir adelante, gracias por tu eterna paciencia, por tu compañía y tu inagotable apoyo. Te amo.

A mis hermanos

Son símbolos importantes en mi vida, se que comparten mi alegría, gracias por estar conmigo, por su confianza y cariño.

A todos mis amigos, compañeros y maestros de la UNAM, formaron parte de esta aventura, gracias por todo el apoyo recibido, siempre se quedaran en mis recuerdos,

Esteli Nilovna Espinosa Pérez.

# Índice

**pág.**

|  |    |
|--|----|
| Introducción ... ..                                  | 1  |
| Objetivos ... ..                                     | 3  |
| 1. Antecedentes ... ..                               | 4  |
| 1.1 Frijol ... ..                                    | 5  |
| 1.1.1 Generalidades ... ..                           | 5  |
| 1.2 Aporte Nutricional ... ..                        | 7  |
| 1.2.1 Proteínas ... ..                               | 7  |
| 1.2.2 Metionina ... ..                               | 9  |
| 1.3 Factores Tóxicos y Antinutricionales ... ..      | 10 |
| 1.4 Hemaglutininas (Lectinas) ... ..                 | 10 |
| 1.4.1 Definición, distribución y estructura ... ..   | 10 |
| 1.4.2 Efecto tóxico y antinutricional ... ..         | 14 |
| 1.5 Ácido Fítico... ..                               | 15 |
| 1.5.1 Definición, distribución y estructura ... ..   | 15 |
| 1.5.2 Efectos antinutricionales ... ..               | 18 |
| 1.5.3 Efectos en la biodisponibilidad mineral ... .. | 19 |
| 1.5.4 Efectos farmacológicos ... ..                  | 19 |
| 1.6 Taninos ... ..                                   | 21 |
| 1.6.1 Definición, distribución y estructura ... ..   | 21 |
| 2. Poblaciones de frijol común evaluadas ... ..      | 24 |
| 3. Metodologías ... ..                               | 26 |
| 3.1 Determinación de Proteína Cruda ... ..           | 27 |
| Fundamento ... ..                                    | 27 |
| Material y Reactivos ... ..                          | 27 |
| Procedimiento ... ..                                 | 28 |
| 3.2 Determinación de Metionina ... ..                | 28 |
| Fundamento ... ..                                    | 28 |
| Material y Reactivos ... ..                          | 29 |
| Procedimiento ... ..                                 | 29 |
| 3.3 Determinación cuantitativa de Lectinas ... ..    | 31 |
| Fundamento ... ..                                    | 31 |
| Material y Reactivos ... ..                          | 31 |



---

## Índice de Figuras y Tablas

|                  |   | pág. |
|------------------|---|------|
| <b>Figura 1.</b> | Representación esquemática de la estructura tetraédrica de las cinco isolectinas en <i>(Phaseolus vulgaris)</i> .                                       | 12   |
| <b>Figura 2.</b> | Interacciones del Ácido Fítico con proteínas y minerales.   | 17   |
| <b>Figura 3.</b> | Diagrama General de Trabajo.  | 26   |
| <b>Figura 4.</b> | Distribución de contenido de lectinas en 50 poblaciones nativas de frijol común.  | 45   |
| <b>Figura 5.</b> | Distribución del contenido de Acido Fítico en 50 poblaciones nativas de frijol común.   | 47   |
| <b>Figura 6.</b> | Distribución del contenido de taninos en 50 poblaciones nativas de frijol común.  | 48   |
| <b>Figura 7.</b> | Histograma de Proteína, comportamiento de este factor nutricional e indicativo de cantidad de proteína en las 50 variedades de frijol común estudiadas. | 50   |
| <b>Figura 8.</b> | Distribución del contenido de metionina en 50 poblaciones nativas de frijol común.  | 51   |
| <b>Tabla 1.</b>  | Tipo de lectinas presentes en la semilla de algunas plantas.  | 13   |
| <b>Tabla 2.</b>  | Contenido de Ácido Fítico en Cereales y Leguminosas.  | 18   |
| <b>Tabla 3.</b>  | Poblaciones nativas de frijol caracterizadas químicamente.  | 25   |
| <b>Tabla 4.</b>  | Cantidad y secuencia de cada reactivo para la determinación de taninos.   | 39   |
| <b>Tabla 5.</b>  | Contenido de lectina, ácido fítico, taninos, proteína y metionina de 50 poblaciones de frijol nativas.  | 42   |
| <b>Tabla 6.</b>  | Preparación de estándares (Fruhbeck).   | 62   |



---

## *Introducción*

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es la especie más cultivada y conocida del género *Phaseolus*. Esta especie es históricamente una de las más importantes para las poblaciones de Latinoamérica después del maíz, pues su aprovechamiento representa más de 85% de la producción total de las leguminosas producidas para consumo humano. Debido a los hábitos de crecimiento de la planta, el frijol se encuentra asociado frecuentemente con el cultivo de maíz, sobre todo en sistemas tradicionales de producción en regiones con climas de cálidos a fríos, así como a otras especies alimenticias originarias de México.<sup>(1,2)</sup>

El cultivo, producción, consumo y almacenamiento de frijol, formaba parte importante de nuestra cultura agrícola aún antes de la conquista, y junto con otros cultivos autóctonos integraban una adecuada alimentación, de tal manera que el maíz representaba la fuente de hidratos de carbono; el frijol la fuente de proteína; las semillas de calabaza la fuente de aceite y proteína; y el chile la fuente de vitaminas,<sup>(2,3)</sup> aún en la actualidad estos productos alimenticios están vinculados fuertemente con la alimentación y la cultura de los pueblos de México. La urbanización y modernización, así como la crisis económica y social, han traído cambios en el patrón de consumo de alimentos, en el campo y ciudades. En el sector rural, la dieta depende del autoabastecimiento de un número limitado de alimentos, mientras que, en el sector urbano el consumo es más dependiente de la disponibilidad económica y de la cadena de distribución de alimentos. De esta manera, el consumo de alimentos de origen animal (lácteos, huevos y carnes) en el área urbana, supera en más del doble las cantidades consumidas en el área rural, en ésta la dieta se basa principalmente en maíz, verduras y frijol, mientras que en la urbana, la mayor parte de las familias consumen una dieta variada, la cual juega un papel fundamental en el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas como obesidad, diabetes, hipertensión, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Desafortunadamente en nuestro país la dieta es cada vez más deficiente nutricionalmente; se ha reducido el consumo de frutas, verduras y leguminosas, e incrementado el contenido de grasa saturada y azúcares, que asociado a la falta de actividad física trae como consecuencia el incremento de estos problemas de salud pública. México ocupa el segundo lugar de obesidad en el mundo y ésta a su vez desencadena la aparición de otros padecimientos como diabetes, que es la principal causa de muerte en nuestro país; y enfermedades cardiovasculares, responsables del 30% de las muertes en el mundo y cáncer. Para tratar de contrarrestar estos problemas, se ha establecido que la mejor estrategia es prevenir dichas enfermedades a través de la dieta; se plantea que el frijol puede ayudar en gran medida a mejorar los niveles de salud y prevenir las enfermedades crónico-degenerativas así como la desnutrición y la anemia.<sup>(4)</sup>

Para incrementar la calidad en la alimentación en México, se considera necesario entre otras cosas, recurrir a las diversas fuentes genéticas de frijol de nuestro país y hacer uso eficiente de ellas mediante la exploración nutricional y nutracéutica de las mismas, y en consecuencia estableciendo sistemas de mejoramiento del frijol.

En este contexto, el frijol como alimento representa una parte importante de la dieta de la población mexicana, por sus múltiples características nutricionales y nutraceuticas, su contenido energético, su gran cantidad de proteína y de hidratos de carbono complejos, así como por su contenido de vitaminas como tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B<sub>6</sub> y ácido fólico, de nutrimentos inorgánicos como calcio, hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio y magnesio, y porque es una excelente fuente de ácidos grasos poliinsaturados. En México existe una gran diversidad genética que debe estar asociada a diferentes atributos nutricionales y nutraceuticos que requieren ser conocidos en forma sistemática, con el objeto de desarrollar formas de utilización integral, en programas de mejoramiento genético y procesos industriales.<sup>(3)</sup>

Adicionalmente, se atribuyen efectos positivos al frijol en la prevención y control de algunas enfermedades crónicas, debido a su contenido de algunos nutrimentos y otros elementos como el contenido alto de fibra, aminoácidos azufrados, taninos y ácido fítico. En contraste, el grano de frijol contiene factores antinutricionales, como inhibidores de tripsina, hemaglutininas y saponinas, entre otras sustancias, que son destruidas al menos parcialmente, durante los tratamientos térmicos. Como consecuencia de estos procesos se modifica el aprovechamiento nutricional de sus componentes, porque la calidad nutritiva de la proteína, en especial de algunos aminoácidos esenciales como la metionina es dañada.<sup>(5)</sup>

El frijol común se puede considerar un alimento con valor nutraceutico, ya que la ingesta de este grano reduce los niveles de colesterol en la sangre; además, al alto contenido de polifenoles se le ha atribuido un efecto antioxidante ante el estrés oxidativo. De manera que se contribuya a mantener e incrementar su consumo.<sup>(6)</sup>

En el presente estudio se evaluó el contenido de proteína total, metionina, lectinas o hemagutininas, ácido fítico y taninos, en 50 poblaciones nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de habito indeterminado cultivadas en asociación con maíz, con el objetivo de determinar el valor nutritivo y nutraceutico de las poblaciones con base en sus características químicas.

---

## Objetivos

### General:

- Determinar cuantitativamente el contenido de proteína, metionina, lectinas, ácido fítico y taninos en 50 poblaciones nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) de hábito determinado, cultivadas en asociación con maíz (*Zea mays*) para proporcionar una visión general del aspecto químico, toxicológico y nutracéutico.

### Particulares:

- Determinar cuantitativamente el contenido de metionina y lectinas considerando los datos de un previo estudio semicuantitativo.
- Medir el contenido de metionina biodisponible en las 50 poblaciones nativas, como indicativo de calidad, debido a que es el aminoácido limitante en las leguminosas.
- Evaluar el contenido de fitohemaglutininas de forma cuantitativa (expresado en referencia a faseolotoxina), para conocer el rango de toxicidad de estas enterotoxinas, que desde el punto de vista alimenticio son de gran importancia.
- Determinar el contenido de ácido fítico y taninos para estimar elementos nutracéuticos, expresados como ácido fítico y ácido tánico en 50 poblaciones nativas de frijol.
- Determinar la relación de ácido fítico, taninos, lectina, metionina con el contenido de proteína en 50 poblaciones nativas de frijol, para conocer las posibles correlaciones negativas o positivas y así poder lograr una clasificación química, toxica, nutracéutica y nutricional adecuada.

---

## 1. Antecedentes

La presencia de restos arqueológicos de frijoles de cerca de 9 mil años de edad, en donde existieron asentamientos humanos en el Continente Americano, sugiere que el interés de los habitantes en la planta de frijol debió arrancar con fecha anterior al inicio de su cultivo, de apenas cinco mil años <sup>(7)</sup>

El cultivo de frijol es de los más antiguos en América, seguramente los nativos americanos probaron los usos de la planta como alimento o como medicina (cuyos datos se reportan en el Códice Badiano-De la Cruz) y descubrieron su riqueza, atesorando las semillas para su reproducción. En la región México-Guatemala la domesticación de la planta dió lugar a una gran diversificación de la especie (*P. vulgaris* L.) que hoy es conocida como frijol común. Más aún, los antiguos indígenas americanos, ayudados por los diferentes climas, suelos y modo de utilización, seleccionaron diferentes especies del género *Phaseolus* produciendo una amplia gama de estructuras, colores y sabores de semillas. De aproximadamente 80 especies de frijol silvestre que existen en el continente americano, sólo 5 fueron domesticadas para servir como alimento y se conservan actualmente en tierras americanas. Estas especies son las siguientes: *Phaseolus vulgaris* o frijol común con múltiples variedades; *Phaseolus coccineus* o frijol ayocote; *Phaseolus darwinianus* o frijol gordo; *Phaseolus acutifolius*, frijol tepari o escumite y *Phaseolus lunatus* o frijol lima. En el caso del frijol común, además de ser un alimento, también tiene valor medicinal, ya que por ejemplo, el fruto sin madurar o ejote verde es alimento, pero las vainas maduras son usadas como medicina. <sup>(8)</sup>

El uso medicinal de las plantas que los rodeaban, llevó a los indo-americanos a cultivarlas y a acumular el conocimiento herbolario. Este conocimiento fue reconocido por los conquistadores como atestiguan obras escritas en el siglo XVI, tales como el Códice Badiano (De la Cruz, 1552) o de la Historia *Plantarum Novae Hispaniae* (de Francisco Hernández) en donde se describen principalmente las plantas prehispánicas de uso medicinal. Ahí está incluido el uso del frijol ayocote (*P. coccineus*), cuyo jugo se usaba para desinflamar los ojos y las raíces como purgante y desparasitador. El Codice Florentino (Fray Bernardino de Sahagún) repite el uso medicinal de la raíz de frijol ayocote ("cimatli") y advertía de la toxicidad de la raíz cruda. <sup>(7)</sup>

Actualmente se acepta que el frijol común tiene utilización medicinal con base en usos y costumbres indígenas, y sus propiedades se describen en tratados como: la "Guía Terapéutica de Medicinas Herbales" elaborada por la Comisión Europea de Alemania, el libro *Handbook of*

*Medicinal Herbs*, así como en el libro *Herbal Medicines*, donde viene incluido el frijol como planta medicinal, entre otros, que consideran el uso del frijol por sus propiedades medicinales. Desafortunadamente, en la literatura mexicana actual los tratados de Herbolaria (un tema de gran riqueza de conocimientos tradicionales), no enlistan al frijol de ningún tipo como planta medicinal. Probablemente el uso mayoritario en la alimentación de esta planta, llevó al olvido su empleo como medicina.<sup>(8)</sup>

El género *Phaseolus* con sus suculentas semillas, resultó un experimento exitoso que se presentó como un regalo de la naturaleza a los indo-americanos que nos precedieron en este Continente. Desde luego que la distribución del frijol como alimento, se extendió muy tempranamente en América, como lo indica su presencia en el sureste de Estados Unidos hace mil quinientos años y en Panamá hace mil seiscientos años. Sin embargo, las plantas que se cultivaron contenían ya la aportación del conocimiento que produjo la domesticación, al ser cultivadas las mejores semillas de frijol por los indígenas repetidamente, conocimiento que permanece en la información genética de las poblaciones nativas de la especie. Aunque el cultivo del frijol estaba ampliamente distribuido en la zona andina, tuvo más influencia cultural en tierras mesoamericanas. En estos pueblos, la economía descansaba en el aprovechamiento del entorno biológico, buscando la domesticación de plantas que crecían de manera silvestre, pero que tenían un alto valor nutritivo.<sup>(9)</sup>

La semilla de frijol viajó a Europa en el siglo XVI y desde entonces se cultiva en casi todo el mundo. Como tal, esta pequeña semilla lleva empacada la información acumulada de la evolución natural y la domesticación ejercida por nuestros antepasados. Es una herencia cultural indo-americana que se debe reconocer y atesorar, en estos tiempos de apropiación de genomas por los países industrializados, que aprecian el valor del trabajo de la evolución para manipularla y explotarla comercialmente.<sup>(10)</sup>

## 1.1 Frijol

### 1.1.1 Generalidades

El género *Phaseolus* pertenece a la familia *Leguminosae*, sub-familia *Papilionoideae*, tribu *Phaseoleae* y subtribu *Phaseolinae*. El número de especies que pertenecen al género *Phaseolus* es desconocido. En México el número de especies fluctúa alrededor de 50 y entre ellas figuran las cinco especies que se han domesticado por el hombre, como son: *Phaseolus vulgaris*,

*P. coccineus*, *P. darwinianus*, *P. lunatus* y *P. acutifolius*. El frijol común, es una planta herbácea que de forma silvestre se comporta principalmente como las plantas anuales y duran alrededor de seis meses entre la germinación y la madurez; sin embargo, las variedades cultivadas muestran ciclos vegetativos que oscilan entre tres y nueve meses. Esta leguminosa muestra una gran fluctuación en hábitos, caracteres vegetativos, color de las flores y en el tamaño, forma y color de vainas y semillas. Hay tipos trepadores o erguidos y también arbustivos enanos. Las hojas son ovaladas, enteras, acuminadas; las flores nacen sobre racimos auxiliares de pocas flores. Las vainas de las semillas son finas, largas o ligeramente curvadas. El color puede variar desde amarillo hasta verde oscuro, a veces con manchas rosa o púrpura. El número de semillas puede oscilar de 1 a 12, mostrando variación importante en éste y en su color.<sup>(10)</sup>

El frijol es nativo de América, probablemente del centro de México y Guatemala. En México, específicamente en el Valle de Tehuacan, Puebla, se han encontrado evidencias de su existencia desde hace por lo menos 5000 años. Las formas silvestres de *Phaseolus vulgaris* se han localizado en la parte occidental y Sur de México; también, se han encontrado en la parte oriental de la Cordillera Andina, en América del Sur. Esto indica que *Phaseolus vulgaris* se originó muy probablemente en la parte occidental del área México-Guatemala, a una altura aproximada de 1200 msnm<sup>1</sup>.<sup>(11)</sup>

El crecimiento óptimo de la especie requiere temperaturas medias entre 16 y 24°C, con mejor crecimiento en los trópicos y subtropicos, bajo condiciones de temperatura decreciente. El crecimiento se detiene con temperaturas inferiores a 10°C, y muere con heladas. Sólo puede crecer en zonas en las que el periodo de heladas va de 105 a 120 días. Una temperatura de 30°C marca el límite superior para su cultivo satisfactorio. Requiere crecer en temporal en zonas con un promedio de lluvias entre 500 y 1500 mm<sup>(10)</sup>

Actualmente el frijol constituye un alimento importante en la dieta de la población mexicana. Debido a su amplia adaptación se puede producir en todas las regiones agrícolas del país, en diversos sistemas de producción y épocas del año. En 2006 el cultivo ocupó el 2º lugar por la superficie sembrada, con un total de 1.809.679 Ha, por lo que México es el quinto productor mundial después de Brasil, India, China y Myanmar.<sup>(11)</sup>

---

<sup>1</sup> msnm: metros sobre el nivel del mar

En las regiones agrícolas de México existen diferentes preferencias en el consumo de varios tipos de frijol, lo que tiene su origen en costumbres y usos tradicionales; en tanto que, en las áreas de mayor producción ésta se orienta a satisfacer las demandas de los grandes centros urbanos de población. Debido a la presión ejercida por las grandes masas urbanas, la cantidad de variedades que domina el mercado nacional es reducida, lo que ha provocado la siembra de grandes extensiones de un reducido número de variedades en los principales estados productores de nuestro país, con el subsecuente riesgo de pérdida de producción por factores bióticos y abióticos impredecibles e incontrolables. Sin embargo, en la actualidad en un número importante de zonas rurales se cultivan variedades nativas o locales del frijol común (*Phaseolus vulgaris*), con gran diversidad morfológica y genética. El valor de las variedades criollas reside, por una parte, en que desde los inicios del mejoramiento sistemático de las especies en México han sido la base para el desarrollo de las variedades modernas; y por otra, a que en estas poblaciones se encuentra la información genética relacionada con la adaptación a diversas condiciones y factores ambientales adversos. Adicionalmente, en el país la producción de este valioso grano se sustenta en el uso de poblaciones nativas, de tal manera que solo una pequeña fracción de la superficie cultivada con la especie usa semilla mejorada, entre otras razones porque su amplio grado de adaptación a las condiciones ambientales y sistemas de producción y porque reúnen características de planta y semilla demandadas por los agricultores. <sup>(12)</sup>

## 1.2 Aporte Nutricional

### 1.2.1 Proteínas

El frijol es un alimento que proporciona una muy buena cantidad de nutrimentos. Contiene aproximadamente 20 - 25 % de proteína, cantidad que excede en más del doble que los cereales más importantes: su contenido de lisina lo hace excelente si se combina con otros cereales; su contenido de fibra dietética (4 - 5 %): ayuda a disminuir el colesterol y a mantener niveles bajos de glucosa en las personas que padecen de diabetes; contiene de 52 a 76% de hidratos de carbono, y es rico en vitaminas hidrosolubles, en especial de tiamina, y minerales como calcio, magnesio, fósforo, hierro y zinc. <sup>(13)</sup>

En todo el mundo, y especialmente en los países en desarrollo, la dieta se basa normalmente en el consumo de un cereal, por lo general maíz, sorgo o arroz, y de una legumbre, ya sean frijoles comunes o cualquier otra, se ha mostrado que estos dos tipos de alimentos fundamentales se complementan nutritivamente entre sí. Así, por ejemplo, un efecto complementario al alimentar a animales con dietas que suministraban las proteínas a partir de esos dos componentes -maíz y frijoles comunes- en diversas proporciones, que variaban del 100 al 0 por ciento de uno y del 0 al 100 por ciento del otro. Cuando cada componente suministraba cerca del 50 por ciento de las proteínas de la dieta, se obtenía una calidad elevada, superior a la calidad de cada uno de los componentes considerado aisladamente. La causa de ello radica en la composición de aminoácidos esenciales de cada componente. Las proteínas del maíz son deficientes en lisina y triptofano pero tienen cantidades considerables de aminoácidos que contienen azufre (metionina y cistina). Las proteínas de las legumbres, en cambio, son una fuente relativamente abundante de lisina y triptofano, pero tienen un contenido bajo de aminoácidos azufrados. Hoy en día ya no se tiene ninguna duda de que combinando cereales con legumbres se consigue proteína de buena calidad biológica, es decir que contiene todos los aminoácidos esenciales en la proporción adecuada. Esto ha hecho que el consumo de legumbres haya aumentado. <sup>(9)</sup>

Los componentes más importantes de las proteínas del frijol son la faseolina (20% del peso seco de la semilla), la faselina (2 %) y la cofaseolina (0.35 a 0.4 %). Los hidratos de carbono que componen al frijol son azúcares (1.6 %), dextrinas (3.7 %), almidón (35.2 %), pentosas (8.4 %), galactosa (1.3 %), celulosa (3.1 %); además pectinas (0.7 %). <sup>(10)</sup>

El cuerpo humano para el mantenimiento del balance de nitrógeno necesita un aporte mayor de algunas proteínas respecto a otras; ya que las distintas proteínas contienen diferentes cantidades de los diversos aminoácidos. El organismo requiere no solo proteínas, sino de los aminoácidos que forman las proteínas, en las proporciones correctas para reemplazar las proteínas corporales que están siendo catabolizadas. Los aminoácidos que pueden omitirse en la dieta se denominan aminoácidos no esenciales, ya que pueden sintetizarse fácilmente por el organismo, a partir de una variedad de intermediarios metabólicos comunes, siempre que exista suficiente proteína total en la dieta. <sup>(12)</sup>



Ocho aminoácidos no pueden sintetizarse en el organismo, por lo que son denominados esenciales, y pueden suministrarse en la dieta como: lisina, metionina, treonina, leucina, isoleucina, valina, fenilalanina y triptófano. Si alguno de ellos falta o se suministra en cantidad inadecuada, independientemente de la ingesta total de proteínas o aminoácidos, no sería posible mantener el balance de nitrógeno, ya que no existiría una fuente del aminoácido para la síntesis de proteína a reemplazar. El aminoácido limitante de una proteína es el aminoácido esencial que está presente en la cantidad más baja en relación con el requerimiento de ese aminoácido.<sup>(10)</sup>

El conocimiento de los requerimientos de cada aminoácido indispensable y de la proteína total proporciona la base para evaluar la calidad relativa de cada alimento. No todas las proteínas tienen la misma capacidad para satisfacer los requerimientos fisiológicos de nitrógeno total y de aminoácidos esenciales. La calidad proteínica es una expresión utilizada para indicar la eficacia de una proteína como promotora de crecimiento, está sometida a diversos factores, uno de los principales es el contenido de los aminoácidos esenciales en la proteína que contiene en cantidad suficiente para satisfacer las necesidades del ser humano.<sup>(11)</sup>

La calidad proteínica suele medirse evaluando la composición química de una determinada fuente de proteínas, midiendo el tipo y la cantidad de cada aminoácido esencial presente en la proteína. En las leguminosas, el aminoácido limitante en las proteínas es la metionina, en forma correcta la suma de metionina y cisteína, ya que la cisteína se sintetiza a partir de la metionina y la existencia de ésta reduce los requerimientos de metionina, lo que hace indispensable complementar la dieta con otras fuentes de proteínas ricas en metionina. El desbalance se ha resuelto empíricamente mediante el consumo de maíz que es un cereal con elevado contenido de metionina y bajo en lisina, y frijol con alto contenido de lisina y bajo en metionina.<sup>(12)</sup>

### **1.2.2 Metionina**

Las leguminosas contienen buena cantidad de proteínas, pero por lo general tienen uno o dos aminoácidos esenciales limitantes, como son la metionina y la cisteína; y en el grupo de los cereales es la lisina, y en particular en el maíz es el triptófano. La metionina y la cisteína son las principales fuentes de azufre en la dieta, el cuerpo puede sintetizar cisteína a partir de metionina pero no inversamente. Esto hace que la metionina sea esencial para la dieta, ya que tiene muchas

funciones en el cuerpo, como su participación en la síntesis de carnitina, creatina, glutatión, y como sustrato para la síntesis de proteínas. La deficiencia de metionina ha sido también relacionada con efectos adversos en los niveles de colesterol, pudiendo incrementar la circulación del mismo en sangre. <sup>(13)</sup>

El bajo contenido del aminoácido esencial metionina limita el valor nutritivo de muchas proteínas en alimentos de origen vegetal, como los provenientes de leguminosas, debido a que durante el procesado y almacenamiento la metionina como otros aminoácidos, es químicamente modificada, lo que reduce su calidad nutritiva. Las modificaciones incluyen la oxidación a sulfóxido de metionina y sulfona de metionina, y la racemización de la forma D-metionina; la degradación de componentes que producen sabores indeseables; y una pobre digestibilidad cuando forma parte de algunos alimentos. <sup>(10)</sup>

### **1.3 Factores Tóxicos y Antinutricionales**

En general, las leguminosas presentan inconvenientes desde el punto de vista nutritivo, ya que además de su deficiencia en metionina y cisteína, no se escapan de la regla de contener factores tóxicos y antinutricionales en sus semillas; por ejemplo, los granos de frijol crudo se caracterizan por contener factores tóxicos, que pueden incrementar la tasa de mortalidad cuando se dan a animales domésticos o de laboratorio, adicionalmente las semillas crudas presentan baja digestibilidad, tanto de la proteína como de la grasa. Las leguminosas pueden contener factores tóxicos del tipo de glucósidos cianogénicos, promotores de flatulencia, inhibidores de proteasas y hemaglutininas, principalmente <sup>(13)</sup>.

## **1.4 Hemaglutininas (Lectinas)**

### **1.4.1 Definición, distribución y estructura**

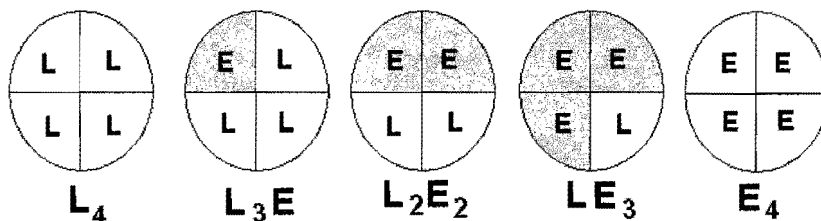
Las hemaglutininas constituyen una clase de proteínas ampliamente distribuidas en la naturaleza, incluyendo a las plantas de consumo común en la dieta del hombre y animales (frijol, soya, lentejas, guisantes, etc.) <sup>(11)</sup>; estas proteínas poseen la propiedad de aglutinar los eritrocitos de la sangre humana o de otros animales. La primera descripción de una hemaglutinina fue realizada por Stillmark en 1839 utilizando semillas de ricino, observando que algunas proteínas de esta

semilla eran capaces de aglutinar la sangre; posteriormente, se detectó que esta actividad podría ser inactivada térmicamente. Estas proteínas tienen especificidad por carbohidratos complejos, como los que forman parte de la estructura de las membranas celulares. Las hemaglutininas son proteínas, específicamente glicoproteínas, que tienen la capacidad de aglutinar los eritrocitos en una forma similar a los anticuerpos, e incluso manifiestan una marcada especificidad, además de una alta sensibilidad hacia ciertos glóbulos rojos. Debido a la especificidad de ciertas hemaglutininas hacia determinados eritrocitos, Boyd y Shapleigh (1839) las denominaron "lectinas" (del latín *legere* = elegir/preferir), el cual es usado por algunos autores como sinónimo de este tipo de compuestos. <sup>(14)</sup>

Las lectinas más conocidas son las siguientes: ricina, concanavalina A, la hemaglutinina del frijol de soya, curcina, lectina de pera y la favina. La primera que se reconoció con las características antes descritas, fue la ricina de la semilla de ricino (*Ricinus communis*) que es una de las proteínas más tóxicas, con un DL<sub>50</sub> de 0.05 mg/kg en ratón por vía intraperitoneal; la primera aglutinina obtenida y purificada de una planta fue la concanavalina A. Obtenida a partir de las semillas de *Canavalina ensiformis*, no obstante, desde el punto de vista alimenticio, el grupo de lectinas de mayor interés se encuentra en las semillas de leguminosas. Las lectinas han sido encontradas en una amplia variedad de plantas y en diferentes órganos como raíces, tallos y semillas, siendo especialmente abundantes en estas últimas donde pueden llegar a constituir hasta 20% de la proteína. <sup>(15)</sup>

Las lectinas son sintetizadas como prolectinas en el retículo endoplasmático para después pasar al Aparato de Golgi donde finalmente son liberadas. Durante ese viaje sufrirá modificaciones como la mayor parte de las proteínas, para posteriormente ocupar su sitio en los tejidos donde la distribución varía dentro de representantes de varias familias de plantas. La estructura primaria de numerosas lectinas de leguminosas han sido bien elucidadas mediante degradación de Eman y mediante el análisis de su secuencia de genes, encontrando que dicha secuencia es muy similar, lo que hace evidente que las lectinas de leguminosas constituyen un grupo de proteínas que muestran propiedades homólogas. Lo que sobresale de su estructura es el hecho de que contiene 2 o 4 subunidades, en la que cada una tiene un sitio de unión de hidratos de carbono específicos, propiedad que se denomina de multivalencia, lo que permite a las lectinas la capacidad de precipitar glicoproteínas y aglutinar a los eritrocitos en la sangre uniéndose a los hidratos de carbono localizados en la superficie de la membrana de forma no covalente. <sup>(16)</sup>

La lectina del frijol está compuesta por 4 subunidades, las cuales no son idénticas, ya que existen isómeros E y L, los cuales se pueden distinguir con base en su afinidad, por ejemplo, la subunidad E tiene una alta afinidad por los eritrocitos, mientras que la L por los linfocitos. <sup>(17)</sup>Por lo que, da la posibilidad de encontrar 5 combinaciones de estas 4 subunidades en la forma siguiente: E<sub>4</sub>, E<sub>3</sub>L, E<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, EL<sub>3</sub> y L<sub>4</sub>, como se muestra en la siguiente figura:



**Figura 1.** Representación esquemática de la estructura tetraédrica de las cinco isolectinas en *(Phaseolus vulgaris)*.

Fuente: 10

La actividad hemaglutinante de las lectinas puede ser inhibida mediante la acción de azúcares; de manera simple, si una lectina reacciona con un monosacárido en particular, ésta puede ser fuertemente inhibida por concentraciones bajas del azúcar libre. <sup>(16)</sup>

De manera más compleja, la lectina reacciona solo con una secuencia específica de hidratos de carbono y ningún azúcar individual juega un papel predominante en el proceso de unión. Para inhibir estas lectinas se requieren de polisacáridos con una secuencia similar o idéntica de hidratos de carbono. La fracción de hidratos de carbono de las lectinas tiene afinidad por receptores específicos que se localizan en la membrana celular, como la membrana de los eritrocitos, por lo que algunos autores los clasifican con base en el residuo glucosídico. En el *Cuadro 1* se presentan algunos ejemplos del tipo de lectina en determinados alimentos, con excepción de la semilla de ricino, de la cual se usa su aceite como purgante suave. <sup>(17)</sup>

Tabla 1 Tipo de lectinas presentes en la semilla de algunas plantas.

| Tipo de Lectina que se presenta en algunos alimentos |  |                      |
|--|--|----------------------|
| Carbohidrato Específico unido a la Lectina           | Ejemplo de alimento vegetal que lo contiene  | Actividad mitogénica |
| D-manosa, D-glucosa                                  | Haba ( <i>Vicia faba</i> ), Jack-bean ( <i>Canavalia ensiformis</i> ), Lenteja ( <i>Lens culinaris</i> ) y Chicharo ( <i>Psium sativum</i> ) | +                    |
| D-galactosa  | Ricino ( <i>Ricinus communis</i> )   | +                    |
| Acido N-acetilneurámico                              | Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )   | +                    |
| 2, N-Acetilgalactosamina                             | Frijol de lima ( <i>Ph. Lunatus</i> )  | +                    |
| 2, N-Acetilglucosamina                               | Papa ( <i>Solanum tuberosum</i> ), Trigo ( <i>Triticum vulgaris</i> )  | -                    |
| 2-N-Acetilgalactosamina                              | Soya ( <i>Glycine max</i> )  | -                    |

Fuente: 13

La presencia de las lectinas en varios tejidos de un número amplio de plantas, las diferencias en su localización subcelular y sus propiedades sugieren que estas proteínas pueden estar implicadas en muchas diferentes funciones de diversos tejidos. Los avances en el aislamiento e identificación de lectinas en suficientes cantidades a partir de diversos tejidos permiten la comparación de sus propiedades y su estudio. <sup>(10)</sup>

Algunas de las funciones en las que podrían estar involucradas las lectinas son las siguientes:

- Como sustancia de defensa contra depredadores naturales.
- Inhibición de crecimiento de hongos, como las lectinas de la papa *Solanum tuberosum* y el hongo *Botrytis cinérea*.
- Protección contra hongos patógenos durante las primeras etapas de germinación, en trigo la lectina inhibe el crecimiento de las hifas de *Aspergillus niger* y *Stemphylium botryosum*.
- La lectina semi-purificada de *Vicia cracca* inhibe el crecimiento de bacterias.

Estas evidencias muestran el papel de las lectinas en la defensa de las plantas contra patógenos. <sup>(11)</sup>

## 1.4.2 Efecto tóxico y antinutricional

Las lectinas tienen alta toxicidad para humanos, insectos, puercos, pollos y ratas. Dietas con menos de 0.5% de lectinas disminuyen y detienen el crecimiento, y dosis mayores causan la muerte en un periodo de 2 semanas. <sup>(18)</sup>

Algunas lectinas, además de aglutinar eritrocitos pueden presentar efecto mitogénico *in vitro*, por la capacidad de estimular la síntesis de ADN en linfocitos de bazo de ratón (*Tabla 1*). No obstante el diferente origen de estas proteínas, los efectos tóxicos son los mismos, lo que varía es la intensidad. Entre los efectos tóxicos de algunas fitohemaglutininas, se presenta el efecto dañino es una intensa inflamación de la mucosa intestinal, con la posterior destrucción del epitelio y edema; estas sustancias reaccionan con las criptas y vellos intestinales, pero en diferente región de acuerdo a la especificidad de la lectina, lo que ocasiona una interferencia no-específica con la absorción de los nutrimentos, por consiguiente hay un efecto drástico en la nutrición del organismo que las ingiere. Otros autores Jaffé 1980; Liener 1986; Donatucci 1987, sugieren que la causa de la toxicidad de estas sustancias, radica en las lesiones epiteliales del intestino que pueden favorecer la proliferación bacteriana, que causa la no biodisponibilidad de nutrimentos. Algunas lectinas al parecer no resisten el proceso hidrolítico de las enzimas digestivas, por lo tanto no presentan propiedad tóxica, como es el caso de las lectinas del garbanzo (*Cicer arietinum*). <sup>(19)</sup>

Adicionalmente, cabe la posibilidad de que las lectinas puedan inhibir la actividad de ciertas enzimas intestinales que participan en la degradación de proteínas como la enteroquinasa. No obstante, la interferencia de la lectina en el sistema intestinal, la respuesta tóxica (pérdida de peso y alta mortalidad) es debida principalmente a los cambios estimulados por esta proteína en el sistema metabólico. La ingesta de altas dosis de lectina en la dieta produce un incremento en el recambio de las células epiteliales (debido a una posible activación hormonal), lo que produce un crecimiento del intestino delgado, así como también en el páncreas lo que puede llevar a que dupliquen su tamaño en un periodo de 10 días. Este desarrollo produce un desajuste entre las síntesis y el consumo de proteínas el cuál se ve reflejado en un alta excreción de urea por la orina. Las lectinas también interfieren en la secreción pancreática de insulina, resultando en una pérdida rápida en las reservas del cuerpo, a pesar de los bajos niveles de insulina en el cuerpo no se genera diabetes. <sup>(20)</sup>

Los cambios que siguen a la ingesta más prolongada sugieren la pérdida de hasta 25% del músculo esquelético debido a la activación del sistema catabólico, lo que lleva a la pérdida total de

las reservas y por lo tanto los niveles de glucosa caen vertiginosamente, produciendo una hipoglucemia y, posteriormente, la muerte del animal. <sup>(17)</sup>

La mayor parte de las poblaciones humanas que consumen leguminosas han aprendido de manera empírica que su consumo requiere de un tratamiento térmico para la inactivación de los factores antinutrimientales y tóxicos de origen proteínico. Esta proteína dañina es parte de los denominados factores tóxicos termolábiles. Sobre esta última denominación, hay que tener suma precaución, ya que se debe aplicar el tratamiento adecuado; además, si el material se somete a un calentamiento severo, se puede dañar la calidad nutritiva de la proteína. Por esta razón se recomienda remojar en agua durante la noche para reducir el tiempo de cocción y evitar la disminución del valor proteico y vitamínico. <sup>(10,13,14)</sup>

## **1.5 Ácido fítico**

### **1.5.1 Definición, distribución y estructura**

El ácido fítico (AF) y sus sales constituyen la principal forma de almacenamiento de fósforo (P) en semillas de cereales y leguminosas. Sin embargo, en esta forma el P permanece no disponible para el hombre y animales monogástricos, debido a que estos organismos no están provistos de suficiente actividad de fosfatasas endógenas (fitasas) que sean capaces de liberar el grupo fosfato de la estructura del fitato. El AF es además un compuesto con actividad antinutricional, debido a su capacidad de formar complejos insolubles con minerales y proteínas, convirtiéndolos en no asimilables por el organismo bajo condiciones fisiológicas. Paradójicamente, el AF en dosis bajas, presenta también efectos positivos sobre la salud, como su acción protectora frente al cáncer, la reducción de la formación de cálculos renales y la prevención de enfermedades cardiovasculares. <sup>(21)</sup>

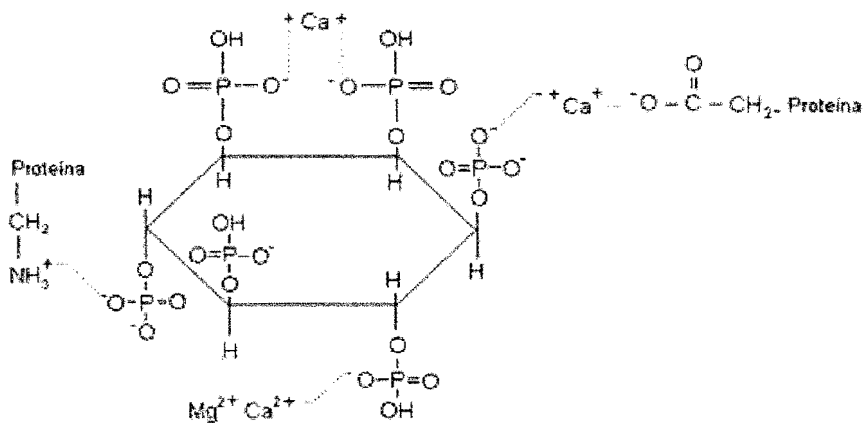
En los últimos años, la divulgación dada a los potenciales efectos beneficiosos de dietas bajas en grasas y con alto contenido de fibra, ha supuesto un fuerte empuje en el uso de leguminosas y semillas en la alimentación humana. Estos cambios en los hábitos alimentarios hacia una alimentación rica en fibra han conducido a una mayor ingesta de fitatos en la dieta. No obstante, durante el procesamiento de los alimentos y la digestión, la cantidad final de AF disminuye significativamente como consecuencia de su hidrólisis, enzimática o química. <sup>(22)</sup>

Se han propuesto varios modelos para la estructura del AF. Según el modelo propuesto por Anderson (1914), el AF sería una molécula con seis grupos ortofosfato (InsP6), de nombre químico *myo-inositol* 1, 2, 3, 4, 5, 6 – *hexaquis* (dihidrógeno fosfato). Según esta estructura, el AF, en pH neutro y el pH que normalmente presentan los alimentos, es una molécula cargada negativamente y, por lo tanto, muy reactiva, por lo que presenta una elevada capacidad para formar complejos o unirse a moléculas cargadas positivamente como cationes o proteínas. <sup>(21)</sup>

La interacción del AF con las proteínas es pH-dependiente, mientras que, con los cationes la interacción es debida exclusivamente a sus numerosos grupos fosfato que pueden unirse bien a un sólo grupo fosfato, a dos grupos fosfato de una misma molécula o a grupos fosfato de distintas moléculas de AF (*Figura 2*). En la semilla el AF se encuentra como una mezcla de sales con varios cationes como K, Mg, Ca, Mn, Zn y Fe; el término “fitina” se ha empleado para designar una mezcla de sales de Ca y Mg del AF. La solubilidad de las sales del AF varía con el pH, ya que el grado de protonación de los grupos fosfato que no se han unido a los metales está en función de dicho parámetro. <sup>(22)</sup>

Aparentemente, en la semilla el AF se encuentra en forma de sales relativamente solubles de Na o K, más que como fitina insoluble. Las sales de Ca y Mg son solubles a pH bajos (por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas alrededor de 5) e insolubles a pH elevados (alrededor de 9), por lo tanto a pH fisiológico (7.35-7.45) serían insolubles, de ahí el descenso de la biodisponibilidad mineral. En general, las sales hidrogenadas y monovalentes del AF son solubles en agua, mientras que las sales metálicas divalentes y trivalentes son bastante insolubles. <sup>(16)</sup>





**Figura 2.** Interacciones del AF con proteínas y minerales.

Fuente: 21

El AF se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal. En la mayoría de las plantas una gran proporción de P (80%) está presente en forma de fitato, especialmente en aquellas semillas en las que el AF se encuentra en concentraciones elevadas, de 1 a 7%. Así, en las semillas de cereales, oleaginosas y leguminosas los niveles de AF son elevados y constituyen porcentaje (60-82%) del P total; varias raíces y tubérculos presentan cantidades moderadas de AF, representando el P fitico de 21 a 25 % del total, mientras que en verduras las cantidades de AF encontradas son muy pequeñas. <sup>(21)</sup>

En cereales el P fitico constituye de 64 a 85 % del P total, localizándose la mayoría del AF en aleuronas celulares. En la tabla 2, se muestran los niveles de AF (g/100g) encontrados en diferentes cereales y leguminosas. <sup>(22)</sup>

Tabla 2. Contenido de Ácido Fítico en Cereales y Leguminosas

| Cereales                                    | Ácido Fítico (g/100g) | Distribución  |
|---|-----------------------|---|
| Arroz ( <i>Orizae sativa</i> )              | 0.86 a 0.99           | 80% del fitato en la capa externa del salvado                         |
| Trigo ( <i>Triticum aestivum</i> )          | >1.13                 | localización es similar a la del arroz                                |
| Maíz ( <i>Zea may</i> )                     | 0.77 a 0.99           | más de 90% se encuentran en el germen                                 |
| Sorgo ( <i>Sorghum vulgare</i> )            | 0.82 a 0.96           | niveles de AF mayores en las variedades coloreadas                    |
| Cebada ( <i>Hordeum vulgare</i> )           | 0.99 y 0.77           | -   |
| Avena ( <i>Avena sativa</i> )               | 0.99 y 0.77           | -   |
| Haba ( <i>Vicia faba</i> )                  | 0.71 y 1.15           | localizándose en el cotiledón, en cáscara contiene 0.06 a 0.20% de AF |
| Chicharo ( <i>Pisum sativum</i> )           | 0.75 a 0.94           | -   |
| Frijol de vaca ( <i>Vigna unguiculata</i> ) | 0.77                  | -   |
| Lentejas ( <i>Lens culinaris</i> )          | 0.7                   | -   |
| Garbanzos ( <i>Cicer arietinum</i> )        | 0.7                   | -   |

Fuente: 22

El AF se encuentra en los alimentos (granos de cereales, leguminosas, oleaginosas y frutos con cascara) en niveles de 0.1 a 6 %, dependiendo su concentración de la parte de la planta que se consuma, en semillas los niveles son elevados, en tubérculos, raíces y frutas los contenidos son moderados y en verduras bajos. En países en vías de desarrollo, así como en la población vegetariana de países desarrollados, el consumo de alimentos con altos niveles de AF es muy elevado, de esta manera, el consumo medio de AF en la dieta se ha estimado de 0.75 a 0.79 g/persona/día, niveles que son dos o tres veces mayores a los observados en países en vías de desarrollo, como la India. <sup>(12)</sup>

### 1.5.2 Efectos antinutricionales

Los fitatos reducen la biodisponibilidad mineral e inhiben enzimas proteolíticas y amilolíticas. A pesar de que la naturaleza exacta y el grado de unión del AF a minerales y proteínas son difíciles de determinar, y de que su papel en la nutrición es complejo, está claro que altos niveles de AF en la dieta están asociados con efectos nutricionales adversos en el hombre. <sup>(16)</sup>

### 1.5.3 Efectos en la biodisponibilidad mineral

Por su estructura altamente reactiva, el AF es un excelente agente quelante presentando gran afinidad por todos los elementos trazas polivalentes y minerales como  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$ . La mayor parte de los estudios realizados sobre la interacción entre el fitato y los minerales ponen de manifiesto la existencia de una relación inversa entre la absorción de estos micronutrientes y el AF, aunque existen grandes diferencias en el comportamiento individual de cada elemento mineral. <sup>(16)</sup>

Los efectos adversos del AF en la biodisponibilidad mineral dependen de un gran número de factores, entre los que destacan la concentración de AF y la fuerza de su unión con los diferentes minerales. También influyen otros factores como los siguientes:

- a. Las condiciones de procesado del alimento (especialmente pH), el tipo de AF (añadido o endógeno) y la concentración de minerales en el alimento.
- b. Si el AF es ingerido en la misma comida que la fuente mineral o en comidas separadas.
- c. La concentración de proteínas en la dieta y, por lo tanto la presencia de proteínas, péptidos o aminoácidos en el intestino que pueden interferir en la formación del complejo fitato mineral.
- d. La presencia de otros agentes quelantes como fibra dietética, ácido oxálico, ácido ascórbico, ácido cítrico o taninos, que pueden competir con el AF en su unión con minerales.
- e. La presencia de fitasa de origen intestinal, bacteriana o de la dieta, así como la inhibición de dicha enzima.
- f. La adaptación metabólica del individuo a altos niveles de AF. <sup>(22)</sup>

### 1.5.4 Efectos farmacológicos

También se han observado efectos positivos del AF cuando se encuentra en bajas concentraciones, entre estos se pueden mencionar: retardo de la digestibilidad del almidón y disminución de la respuesta a la glucosa en sangre; hipocolsterolemia; prevención de cálculos renales; control de la caries dental y cáncer; y mejora de la capacidad de captación de oxígeno de los glóbulos rojos. Estudios epidemiológicos y en ratas sugieren también un posible papel preventivo del AF frente a diversas patologías cardíacas, derivado del control de la hipocolsterolemia, y la arteriosclerosis en el hombre. También, se ha indicado el papel del AF

como antídoto frente a la intoxicación aguda por plomo, debido principalmente a su capacidad de unirse a minerales. <sup>(17)</sup>

La adición de AF (en niveles de 0.2 a 9 %) en la dieta de ratas reduce significativamente los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos. Esto parece estar vinculado con la capacidad del AF de unirse al Zn disminuyendo los niveles séricos de Zn y la relación Zn/Cu, ya que altos valores en ésta, tienden a predisponer al hombre a enfermedades cardiovasculares por implicar hipercolesterolemia. Además, posiblemente este efecto está también relacionado con la reducción de los niveles plasmáticos de glucosa y la concentración de insulina, la cual conduce a una disminución del estímulo para la síntesis hepática de lípidos. <sup>(21)</sup>

Estudios en animales y en el hombre han mostrado que la inclusión en la dieta del salvado de trigo supone un papel protector frente a diversos tipos de cáncer, especialmente de colon y mama, sin embargo, en un principio no estaba claro si este efecto era debido exclusivamente a la fibra o a otros componentes como el AF. En este sentido, Jenab y Thompson (1998) han observado que el AF presente en el salvado de trigo, así como el AF añadido a dietas con bajo contenido en fibra reduce la presencia de biomarcadores del riesgo de cáncer. <sup>(22)</sup>

Además, estudios en ratas alimentadas con AF muestran una relación negativa significativa entre los niveles de AF (0.6 a 2.0 %) y la proliferación de células epiteliales en el colon ascendente y descendente. El AF disminuye el riesgo de cáncer a través de los mecanismos siguientes:

- a. Al unirse al Fe disminuye la formación de radicales libres durante la oxidación de los lípidos, ya que ésta es catalizada por dicho ión.
- b. Al unirse al Zn, necesario para la síntesis de ADN, se reduce indirectamente la proliferación celular.
- c. Al retardar la digestión del almidón, éste puede llegar al colon y ser fermentado por las bacterias produciéndose ácidos grasos de cadena corta cuya actividad protectora frente al cáncer es conocida. <sup>(5)</sup>

El AF no solo previene el cáncer sino que también es agente terapéutico, ya que el InsP6 (*myo-inositol* 1, 2, 3, 4, 5, 6 - *hexaquis* (dihidrógeno fosfato)) incrementa la diferenciación de células malignas, que a menudo resulta en una reversión al fenotipo normal. No obstante, el efecto del AF no es igual en todos los órganos, aunque se ha encontrado una reducción en la incidencia de nódulos hiperplásicos en el hígado, de carcinoma hepatocelular y de cáncer de mama, estudios

realizados con distintos carcinógenos en esófago, intestino delgado, colon, riñones y tiroides no muestran efecto de AF en la incidencia de cáncer.<sup>(6)</sup>

En cuanto a la prevención de cálculos renales y tratamiento de la hipercalciuria, existen evidencias experimentales de que los inositol di- y trifosfato (InsP2, InsP3) son efectivos en la prevención de cristales de hidroxipatita *in vitro* que actúan como núcleo en la formación de cálculos. Además, estudios *in vivo* e *in vitro* y estudios clínicos, han mostrado claramente que el fitato juega un papel importante como inhibidor de la cristalización de sales cálcicas en los fluidos biológicos, por lo que es una alternativa clara para el tratamiento de la litiasis renal.<sup>(16)</sup>

## 1.6 Taninos

### 1.6.1 Definición, distribución y estructura

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular.<sup>(23)</sup>

Sus principales funciones en las células vegetales son como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, y como agentes protectores frente a la acción de patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa.<sup>(24)</sup>

En la actualidad, este grupo de compuestos fitoquímicos es de gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. De tal manera, que, muchas de las propiedades benéficas atribuidas a los alimentos de origen vegetal, están asociadas principalmente con la actividad antioxidante y las propiedades antinutritivas de estos compuestos fenólicos.<sup>(25)</sup>

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde un punto de vista tecnológico y nutricional. Dado que los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los

alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer, así como en procesos de envejecimiento por lo que están siendo intensamente estudiados en ensayos *“in vivo”* e *“in vitro”*.<sup>(17)</sup>

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático (un anillo benceno), con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos.<sup>(25)</sup>

Estas sustancias se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático.<sup>(26)</sup>

Por ello, el modo más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico; también pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y otros compuestos fenólicos. Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, que incluyen todos los polifenoles de origen vegetal con un peso molecular de 500 Da. En función de su distribución botánica y de su capacidad de degradación se distinguen dos grandes grupos: los hidrolizables y los condensados. Entre los primeros se encuentran, los ésteres de glucosa como ácido galico, digitálico y elágico, como por ejemplo el ácido tánico o simplemente tanino, que provoca lesión hepática aguda (hígado graso y necrosis hepática); mientras que los taninos condensados son flavonoides: polímeros de ontocianidinas. Los primeros son rápidamente hidrolizados por ácidos, bases o ciertas enzimas; los segundos no se degradan por tratamiento ácido sino que tienden a polimerizarse.<sup>(24)</sup>

Los taninos están presentes en muchas frutas tropicales como mango, dátil o caqui, así como en el café, té y cacao; y en cereales y leguminosas. Se estima que en una taza de infusión de café puede haber entre 72 y 104 mg de taninos y en una de té entre 431 y 450 mg. Otra fuente de taninos, sobre todo de forma condensada, son las uvas, zumo de uva y vinos. Las concentraciones más elevadas se encuentran en la piel de los frutos. (Se considera que las más elevadas tienen un contenido medio de 500 mg/kg y los vinos tintos entre 1 y 4 g/L de vino). A partir de estos datos se estima, que una persona puede ingerir aproximadamente 1 g o más de taninos al día.<sup>(25)</sup>

Los taninos contienen suficientes grupos hidroxilo fenólicos como para formar puentes estables con las proteínas, así, se pueden combinar con las proteínas de la piel de tal manera que las hace resistentes a la putrefacción, es decir, convierte las pieles en cueros (curtido). Por otra parte, los efectos adversos de los taninos se atribuyen precisamente a su capacidad para interferir con enzimas digestivas, de tal manera que dietas con un contenido elevado en taninos produce una disminución de peso de animales de laboratorio, una baja capacidad de digestión de proteínas y un aumento en el contenido de nitrógeno en heces. Los taninos también pueden inhibir enzimas digestivas como amilasas y proteasas. <sup>(24)</sup>

Además, tienen capacidad de formar complejos con iones divalentes y trivalentes disminuyendo la disponibilidad del calcio, hierro y cobre, también, pueden actuar como antivitaminas; un ejemplo de dicha acción sería la disminución que producen en las reservas hepáticas de vitamina A. <sup>(25)</sup>

No obstante en los últimos años, se han atribuido, también propiedades benéficas sobre la salud, como antimutagenicos, anticancerigenos y de protección frente a enfermedades vasculares y lesión hepática. El fundamento de estas acciones protectoras estriba en su actividad antioxidante (captoreadores de radicales libres). <sup>(26)</sup>

---

## *2. Poblaciones de frijol común evaluadas*

Se emplearon 50 poblaciones nativas de frijol de hábito indeterminado, de hábito de crecimiento Tipo IV, provenientes de los estados de México (45), Michoacán (3) y Oaxaca (2). Este grupo de poblaciones se seleccionó por sus características agronómicas y rendimiento superiores en experimentos conducidos en asociación, en el sistema de cultivo milpa. Los experimentos se condujeron en el Campus Montecillo, del Colegio de Postgraduados, localizado en Montecillo estado de México (Rocadio, 2008).

El análisis químico se realizó en muestras de 100 gramos de cada población obtenidas en condiciones de cultivo y ambientales similares, con el objeto de reducir el efecto ambiental en el análisis y que los efectos observables sean mayormente genéticos.

La selección de germoplasma con base en características agronómicas y origen se realizó para incluir un intervalo amplio de diversidad de alto valor agronómico, que permitiera evaluar la amplitud en la cantidad de factores tóxicos y antinutrimientales presentes en el germoplasma, así como factores nutracéuticos existentes de este grupo de poblaciones de la especie *Phaseolus vulgaris*<sup>(8,11)</sup>

En la *Tabla 3*, se describen el nombre común y origen de las 50 poblaciones nativas de frijol con la que se trabajó, así como su nombre común y lugar de origen. En el *Anexo 1* se muestran fotografías de cada una de las poblaciones evaluadas.



**Tabla 3.** Poblaciones nativas de frijol caracterizadas químicamente.

| Clave de identificación <sup>a</sup> | Nombre Común <sup>b</sup> | Origen geográfico    | Clave de identificación | Nombre Común               | Origen geográfico |
|--------------------------------------|---------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------|
| CPMEX02-11                           | Vaquita                   | Jumiltepec, Morelos  | CPMEX04-100             | Moro                       | Chalco, Mex.      |
| CPMEX02-22                           | Rosita                    | Tepetlixpa, Mex.     | CPMEX04-122             | Ojo de fiebre              | Tlalmanalco, Mex. |
| CPMEX02-30                           | Cocona                    | Juchitepec, Mex.     | CPMEX05A-7              | Amarillo grande            | Atlautla, Mex.    |
| CPMEX02-32                           | Rosita                    | Juchitepec, Mex.     | CPMEX05A-8              | Coconita                   | Juchitepec, Mex.  |
| CPMEX02-34                           | Apetito                   | Atlautla, Mex.       | CPMEX05A-12             | Revuelto                   | Ozumba, Mex.      |
| CPMEX02-39                           | Rojito                    | Tepetlixpa, Mex.     | CPMEX05A-14             | Amarillo pequeño           | Ozumba, Mex.      |
| CPMEX02-51                           | Moro                      | Tlalmanalco, Mex.    | CPMEX05A-15             | Rojo                       | Amecameca, Mex.   |
| CPMEX02-52                           | Yacapaxtle                | Tlalpetelco, Morelos | CPMEX05A-17             | Coconita                   | Amecameca, Mex.   |
| CPMEX02-55                           | Amarillo                  | Tlalmanalco, Mex.    | CPMEX05A-18             | Revuelto (rojo y coconita) | Amecameca, Mex.   |
| CPMEX03-14                           | Cocona                    | Nepantla, Mex.       | CPMEX05A-22             | Torito                     | Tepetlixpa, Mex.  |
| CPMEX03-16                           | Negro bola                | Atlautla, Mex.       | CPMEX05A-24             | Amarillo grande            | Ozumba, Mex.      |
| CPMEX03-20                           | Coconita                  | Tepetlixpa, Mex.     | CPMEX05A-26             | Moro                       | Ozumba, Mex.      |
| CPMEX03-22                           | Amarillo enredador        | Tepetlixpa, Mex.     | CPMEX05A-28             | Coconita                   | Tepetlixpa, Mex.  |
| CPMEX03-24                           | Criollo amarillo          | Tepetlixpa, Mex.     | CPMEX05A-30             | Moro                       | Atlautla, Mex.    |
| CPMEX03-26                           | Cocona                    | Atlautla, Mex.       | CPMEX05A-32             | Rojo                       | Nepantla, Mex.    |
| CPMEX03-29                           | Garrapato                 | Atlautla, Mex.       | CPMEX05B-19             | Frijol negro               | Chalco, Mex.      |
| CPMEX03-30                           | Amarillo revuelto         | Atlautla, Mex.       | CPMEX05B-20             | Frijol crema               | Chalco, Mex.      |
| CPMEX03-32                           | Coconita rosa             | Juchitepec, Mex.     | CPMEX05B-26             | Frijol crema               | Chalco, Mex.      |
| CPMEX03-38                           | Flor de mayo              | Juchitepec, Mex.     | CPMEX05B-48             | Apetito                    | Chalco, Mex.      |
| CPMEX03-48                           | Frijol crema              | Juchitepec, Mex.     | MICH-O6-1               | ----                       | Michoacan         |
| CPMEX03-63                           | Bola palacio              | Ocuituco, Morelos    | MICH-O6-2               | ----                       | Michoacan         |
| CPMEX03-66                           | Bola palacio              | Yecapixtla, Morelos  | MICH-O6-3               | ----                       | Michoacan         |
| CPMEX03-68                           | Flor de mayo              | Atlautlan, Morelos.  | OAX-O5-1                | Negro pequeño              | Etla, Oaxaca.     |
| CPMEX03-72                           | Bola palacio              | Yecapixtla, Morelos. | OAX-O5-3                | Rojito                     | Etla, Oaxaca.     |
| CPMEX04-99                           | Amarillo pequeño          | Chalco, Mex.         | Montecillo De Bordo     | ----                       | ----              |

<sup>a</sup> Clave asignada a la variedad en el Laboratorio de Genética del Colegio de Posgraduados.

<sup>b</sup> Nombre asignado en el lugar de origen.

---- No se cuenta con el dato

### 3. Metodologías

A continuación se presenta el diagrama de trabajo general, el cual ilustra el procedimiento que se siguió para la realización del presente trabajo.

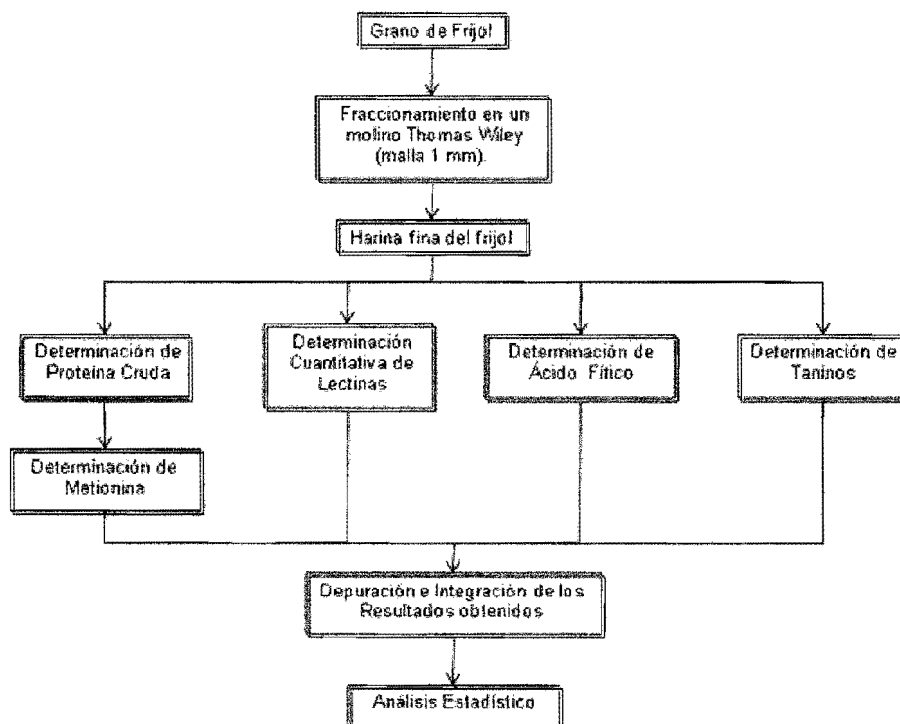


Figura 3. Diagrama General de Trabajo

### 3.1 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

#### Fundamento

La determinación se realiza según el método Kjeldahl, el cual se basa en la oxidación de la materia orgánica mediante una mezcla digestiva ( $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$  y  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) formándose una sal fija de sulfato ácido de amonio ( $NH_4HSO_4$ ) que posteriormente se destila durante la cual se libera amoniaco de dicha sal, mediante la adición de NaOH al 40%, el amoniaco se recibe en el ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) para formar borato de amonio el cual se titula con HCl 0.01N, de esta forma se obtiene el porcentaje de nitrógeno de la muestra, el cual al multiplicarlo por el factor 6.25, para obtener el porcentaje de proteína cruda. <sup>(10)</sup>

#### Material y Reactivos

- Digestor TECATOR, Mod. Ab 20/40
  - Microdestilador TECATOR AUTO KJELTEC, No. 1030
  - Tubos de digestión de 75 mL
  - Mezcla digestiva (a)
  - Peróxido de hidrogeno al 30 % (v/m)
  - Sulfato de potasio RA
  - Solución de NaOH al 40% (m/v)
  - Solución de ácido bórico con indicador (b)
  - Solución de HCl 0.01N valorada
- a) Mezcla digestiva: Se disuelve 3g de sulfato de cobre ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) en 20 mL de agua destilada, se agrega 50 mL de ácido ortofosfórico ( $H_3PO_4$ ), y se adiciona con cuidado, resbalando por las paredes 430 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ), se deja agitando la muestra durante 30 minutos aproximadamente.
- b) Solución de ácido bórico con indicadores: Se pesa 20g de ácido bórico y se coloca en un matraz aforado de 2L, se adiciona agua destilada hasta disolver y se agrega 20 mL de verde de bromocresol (100mg en 100 mL de  $CH_3OH$ ) y 14 mL de rojo de metilo (10mg en 100 mL de  $CH_3OH$ ), y se mezcla vigorosamente.
- c) Se utilizo metanol ( $CH_3OH$ ) debido a que el equipo de destilación lo especifica en el manual de operación.

### **Procedimiento**

Se pesa de 20 a 80 mg de muestra (dependiendo del contenido de proteína) en papel de copia y se introduce en el tubo de digestión, se adiciona aproximadamente 0.5g de  $K_2SO_4$  y se agrega 3 mL de mezcla digestiva, posteriormente se coloca en el digestor a una temperatura de 370 °C durante 15 minutos; pasado ese tiempo, se retira, se deja enfriar y se agrega 1.5 mL de  $H_2O_2$  (al 30%); se vuelve a colocar el tubo en el digestor hasta que la digestión termine, esto es, cuando el contenido es traslúcido o incoloro.

Terminada la digestión se deja enfriar, se agrega 25 mL de  $H_2O$  destilada y se coloca en el equipo AutoKjeldahl de microdestilación; el cual da la lectura de los mililitros gastados en la titulación de la muestra, los cuales sirven para conocer el porcentaje de nitrógeno, contenido en la misma. Además de introducir los tubos conteniendo la muestra se debe de preparar de igual manera un blanco, donde se sustituye la muestra por 70 mg de glucosa o sacarosa.

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(mL_{muestra} - mL_{blanco}) * (N) * (m_{eq} * 100)}{m}$$

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ Nitrogeno} * 6.25 \text{ (factor)}$$

Donde:

$N$  = Normalidad de la solución de HCl

$m_{eq}$  = miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

$m$  = Peso de la muestra (g)

## **3.2 DETERMINACIÓN DE METIONINA**

### **Fundamento**

La determinación cuantitativa de metionina se basa en la reacción de óxido-reducción que se efectúa entre el sulfuro y el ion yodoplatinato; donde el platinato es reducido y el sulfuro presente es oxidado a sulfoxido, de manera que se forma un complejo, que presenta una menor absorción a una mayor concentración de metionina, debido a la decoloración que sufre el ion yodoplatinato, y este complejo es medido a una longitud de onda de 505nm.<sup>(27)</sup>

**Material y Reactivos**

- Acido acético Glacial (1.0 M)
- HCl concentrado y HCl ( 0.1N)
- KI (0.66M)
- NaOH (0.5M)
- Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.56M) anhídrido, Baker
- BaCl<sub>2</sub> (0.53M) reactivo analítico, Técnico química
- Ba(OH)<sub>2</sub>·8H<sub>2</sub>O Merck
- CdCl<sub>2</sub>
- PtI<sub>6</sub> (hexachloroplatinico (IV)), Merck, tóxico.
- Soluciones stock. L-metionina 5mM (No. M-9625 SIGMA )
- Agua destilada
- Buffer de fosfatos pH 7.0
- Agitadores magnéticos
- Espátula
- Gradilla de madera
- Gradilla metálica
- Matraces aforados de 25 mL
- Micropipeta de 1 mL
- Micropipeta de 1-5mL
- Pipetas Pasteur
- Tubos de ensaye
- Espectrofotómetro Sequoia-Turner, Model 340
- Estufa Blue M
- Gas nitrógeno
- Potenciómetro Corning, pH meter 430.
- Tubos para hidrólisis
- Vasos de Precipitados de 25 mL

**Procedimiento**

- Elaboración de la Curva Patrón: Se parte de una concentración conocida de metionina (5mM) y se toman los volúmenes necesarios para hacer la curva (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mL), de los cuales se obtienen valores de concentración de metionina que van desde 5.0 – 30.0µg.

Se colocan en matraces aforados de 25 mL, en donde se les adiciona 3 mL de BaCl<sub>2</sub> (0.53M), 3 mL de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0.56M) y se aforan con buffer de fosfatos (pH = 7); después de lo anterior se filtra con ayuda de vacío para eliminar cualquier precipitado formado, a partir de esto se toma 1 mL de cada una y se coloca en tubos, a los que se les adiciona 2 mL de buffer de fosfatos (pH = 7) y 1 mL de PtI<sub>6</sub> y se mezcla.

Se colocan los tubos en un baño maria a 30°C durante 10 min; después se toma la lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 505 nm (donde primero se ajusta, a 100% de transmitancia con buffer de fosfatos (pH = 7). Luego de haber obtenido las lecturas, se calcula la ecuación de la recta por medio de una regresión lineal.

- Hidrólisis de la proteína de la muestra: Se pesa 200 mg de proteína y se coloca en tubos con tapón de rosca y se le adiciona 4.2 g  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ , después se le añade 7.5 mL agua destilada y 0.5 mL  $\text{CdCl}_2$ ; una vez realizado lo anterior, a los tubos con la mezcla de reacción se les insufla gas (Nitrógeno) y luego de esto, se procura cerrar adecuadamente los tubos.

Los tubos ya preparados se colocan en una estufa durante 10 h. a  $120^\circ\text{C}$  ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), después de haber transcurrido el tiempo, se retiran los tubos y se deja enfriar; a los hidrolizados obtenidos se le ajusta el pH ( $3.5 \pm 0.3$ ) con HCl concentrado y con HCl (0.1N); los hidrolizados se depositan en matraces aforados de 25 mL y se afora con agua destilada y luego se filtra al vacío.

- Método de yodoplatinato, para la determinación de la metionina: Se toma 3 mL del hidrolizado y se coloca en un matraz aforado de 25 mL, al cual se le adiciona 3 mL  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (0.56M), 3 mL  $\text{BaCl}_2$  (0.53M) y se afora con buffer de fosfatos (pH =7). Se filtra con ayuda de vacío y se toma 1 mL, el cual se coloca en tubos, a los que se les adiciona 2 mL de buffer de fosfatos (pH = 7) y 1 mL de  $\text{PtI}_6$ . Después se colocan los tubos en un baño maría a  $30^\circ\text{C}$  durante 10 min. y por último se toma lectura en un espectrofotómetro a 505nm.

La evaluación de la calidad nutritiva, medida con base en el contenido de metionina biodisponible, se hizo con la preparación de dos hidrolizados (hidróxido de bario y cloruro de cadmio a  $120^\circ\text{C}/10\text{hrs.}$ ) para cada muestra, y de cada hidrólisis se realizaron 5 determinaciones, dando un total de 10 lecturas, con la finalidad de aprovechar la sensibilidad del método, y asegurar la reproducibilidad de manera confiable, además de que nos da un indicio de la calidad proteínica, con base a estos resultados se aplicaron pruebas de normalidad, para observar la tendencia de las variedades evaluadas. <sup>(16)</sup>

- Cálculos: Se elabora una curva patrón con los datos de absorbancia contra la concentración del estándar de metionina (de 5 a  $30\mu\text{g}$ ), se calcula la regresión lineal para conocer la ecuación de la recta, y con estos datos interpolar el valor de la absorbancia obtenida para cada muestra, y así conocer la cantidad de  $\mu\text{g}$  metionina:

$$\frac{\mu\text{g}_{\text{metionina}}}{1\text{mL}} \times \frac{25\text{mL}}{3\text{mL}} \times 25\text{mL} = \frac{\mu\text{g}_{\text{metionina}}}{10^6} = g_{\text{metionina}}$$

$$g_{\text{muestra}} \times \frac{g_{\text{proteína}}}{100g_{\text{muestra}}} = g_{\text{proteína}}$$

$$\frac{I_{metionina}}{I_{proteina}} \times 100 = \frac{I_{metionina}}{100g_{proteina}} = \%$$

### 3.3 DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LECTINAS

#### **Fundamento**

La detección de hemaglutininas o lectinas se lleva a cabo por una técnica de microdilución seriada, en la cual se determina la cantidad mínima de faseolotoxina que produce prueba positiva de aglutinación, definiéndose como 1 unidad hemaglutinante (UHG) el equivalente a 1 mg de dicha lectina <sup>(14,15)</sup>

#### **Material y Reactivos**

- Sangre lavada de hámster (machos de 3 meses de edad)
- Solución anticoagulante (a) (Heparina 1000UI)
- Solución de proteasa al 0.2% en solución salina 0.9%
- Solución salina 0.9%
- Solución salina 1%
- Proteasa (SIGMA P-5147, de *Streptomyces griseus* (3.9units/mg sólido))
- Capilares con Heparina
- Embudos pequeños
- Éter etílico
- Fibra de vidrio
- Algodón
- Jeringa de 1 mL
- Matraz Elermeyer de 50 y 150 mL
- Microdilutores
- Micropipeta de 1-5 mL
- Tubos de centrifuga de 15 mL con graduación
- Pipetas pasteur
- Micropipeta multicanales
- Adaptador para celdas de 12 × 80 mm (acondicionado a una abertura de 1 cm<sup>2</sup>)
- Agitador magnético con tacómetro marca THERMOLINE
- Centrifuga EPPENDORF 5702
- Espectrofotómetro Sequoia-Turner. Model 340
- Incubadora marca BUE-M
- Microtiter Kit (Cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Parrilla de agitación múltiple marca CORNING

- a) Cuando la sangre se trabaja inmediatamente se debe utilizar solución de heparina, en la siguiente relación: la solución de heparina dependiendo de su actividad (expresada en UI) se usa en proporción de 15 a 20 UI por mL de sangre.
- b) Se pesó 1 mg de faseolotoxina y se pasó a un matraz aforado de 10 mL, aforando con solución isotónica (0.9%). De esta solución (0.1 mg /mL) se realizó una dilución 1:100 para ocuparla en la microdilución.

### Procedimiento

- Preparación del extracto: Se muele finamente la muestra (con un contenido < 5% de grasa) y se suspende 0.1g en 10 mL de solución salina al 1%, efectuando la extracción con agitación mecánica durante 2 h. a 300 r.p.m. en temperatura ambiente.

Después del tiempo indicado se centrifuga el extracto a 3000 r.p.m. durante 10 min para eliminar el residuo insoluble; el sobrenadante se filtra con un filtro de vidrio de porosidad gruesa, de ser necesario se puede lavar el residuo con más solución salina 1%, para llevar el extracto filtrado al volumen inicial (10 mL).

- Preparación de la sangre: Una vez que se sangra a hámster (previamente anestesiado) vía ocular, la sangre se recoge en un matraz pequeño que contiene solución anticoagulante, se agita suavemente para la completa homogenización de la sangre con la solución anticoagulante. Con esta medida se evita al máximo la coagulación, logrando así diluir la sangre con anticoagulante con solución salina isotónica (se considera lavar la sangre lo más rápido posible para evitar la hemólisis).

La sangre con anticoagulante se traspa a tubos de centrifuga para lavarla (3 veces) con solución salina al 0.9%. La relación sangre: solución salina es aproximadamente 1:13 se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 10 min, después del último lavado el paquete de eritrocitos se mide en el tubo de centrifuga y se diluye a 4%, agregando 24 mL de sol. salina 0.9% por 1 mL de glóbulos rojos compactados.

- Sensibilización de los glóbulos rojos. A cada 10 mL de suspensión de glóbulos rojos al 4% se agrega 1 mL de solución de proteasa al 0.2% y se coloca en la incubadora por 1 h a  $36^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ ; resuspendiendo los eritrocitos cada 15 min.



Posteriormente, se centrifuga para eliminar la enzima sobrenadante y se realizan 3 lavados con solución salina 0.9%. Finalmente, después del último lavado se resuspende el paquete de glóbulos rojos al 3%, por cada mililitro de paquete de eritrocitos se adiciona 32 mL de solución salina al 0.9%.

Cuando se observa en sangre algunos coágulos (aunque fueran pequeños), se considera necesario filtrar esta suspensión, con un pequeño trozo de gasa colocada dentro de un embudo de cuello corto.

- Ajuste de la suspensión de glóbulos rojos. Se toma 0.1 mL de la suspensión de glóbulos rojos ya sensibilizados y se agrega 4.9 mL de solución al 0.9%. Se miden las absorbencias en el espectrofotómetro a 620 nm, usando un adaptador de celdas que permite el paso de solo 1 cm<sup>2</sup> de luz y como blanco se uso solución salina al 0.9%.

La lectura se obtiene entre  $26 \pm 2.5$  (24 a 29) de transmitancia, en caso contrario se realiza la dilución o concentración necesaria para que la suspensión de glóbulos quede dentro de dicho rango.

- Microtitulación. En las placas tipo "V" del microtiter se coloca en cada pozo de las hileras 100  $\mu$ L de solución salina al 0.9% con una pipeta automática multicanales, evitando tocar las paredes del pozo y adicionando con precaución para no desfasar el volumen de la adición. Después se llenó el microtitulador con 50  $\mu$ L introduciendo en el extracto problema y al retirar se absorbe con mucho cuidado la solución adherida en el vástago del microdilutor; posteriormente, se introduce agitación en el primer pozo de la hilera escogida girando sin excesiva presión y se pasa con mucho cuidado al siguiente pozo y así sucesivamente hasta completar una hilera para obtener la dilución seriada. Lo anterior también se realiza para la solución diluida (1:100) de la faseolotoxina que sirve como referencia para la determinación cuantitativa, por cada placa se debe dejar una hilera para la solución de faseolotoxina (PHT); además de, una hilera que corresponde a las pruebas negativas de hemaglutinina, la cual se obtiene al agregar simplemente la cantidad correspondiente de suspensión de eritrocitos a cada pozo.

Por último, con un pipetero de gota se coloca en cada pozo 50  $\mu$ L de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados y ajustados, teniendo precaución de resuspender los glóbulos rojos, en cada adición a una placa. Luego se gira la placa en forma circular y se coloca en la incubadora a  $36.5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5$  durante 1 h.

- Lectura. Una vez que transcurre el tiempo estipulado se coloca la placa sobre el dispositivo de lectura.

Se observa a través de un espejo el fondo de los pozos de cada hilera de prueba, y se registra la máxima dilución que presente prueba positiva de aglutinación, tanto del extracto de la muestra como de la PHT, que sirve de referencia para los cálculos de la respectiva placa.

Se realizan las diluciones necesarias para que el extracto produzca un título dentro de los primeros 10 pozos de una hilera.

Se cuida estrictamente el intervalo de temperatura establecida y todo el material que se utilice se lava perfectamente para asegurar que este limpio.

- Cálculos: La máxima dilución que presenta aglutinación se denomina título (t) de la muestra, como de la solución de PHT. La prueba se efectúa varias veces para mayor representación y confiabilidad de la determinación (mínimo 10 títulos). Se realizan los cálculos de forma individual, para que al final se reportara el promedio  $\pm$  desviación estándar.

1.- Se calcula el límite de detección del método usando como referencia la faseolotoxina: SIGMA L-8754); para lo cual es necesario conocer la cantidad de lectina que se utiliza realmente en el primer pozo, el cual se calcula de la siguiente forma:

$$E = M \times D$$

Donde:

E = Cantidad de lectina para el primer pozo de la hilera respectiva (expresada en  $\mu\text{g}$ )

M = Concentración de lectina en la solución diluida (expresada en  $\mu\text{g} / \mu\text{L}$ )

D = Cantidad de muestra tomada por el microtitulador ( $\mu\text{L}$ )

$$E = \left( 0.001 \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}} \right) \times 50 \mu\text{L} = 0.05 \mu\text{g de lectina}$$

Conociendo este dato se procede a efectuar el cálculo para el límite de detección del método, para lo cual es necesario tener el título (t) de la solución diluida de PHT, el cual se calcula de la siguiente forma:

$$L = 2 \left( \frac{E}{3^t} \right) L$$

Donde:

$L$  = Límite de detección, que corresponde a la cantidad mínima de lectina que produce prueba positiva de aglutinación (expresada en  $\mu\text{g}$ ).

$f$  = Título (valor que indica la máxima dilución del extracto que produce prueba positiva de aglutinación con los eritrocitos del ensayo).

2.- Para el extracto de la muestra, se requiere la máxima dilución que produce prueba positiva de aglutinación, para lo cual es necesario calcular la cantidad equivalente de muestra problema en el primer pozo ( $e$ ), como se hizo anteriormente para la solución de faseolotoxina, pero expresada en mg, se considera la dilución correspondiente para cada muestra, con la siguiente fórmula:

$$e = m \times D$$

Donde:

$e$  = cantidad equivalente de muestra en el primer pozo (mg)

$m$  = concentración equivalente de muestra en el extracto (mg/ $\mu\text{L}$ )

$D$  = cantidad de extracto tomado por el microdilutor ( $\mu\text{L}$ ).

Con el resultado del límite de detección, se calcula las unidades hemaglutinantes (UHG) de las muestras problemas, para lo cual es necesario calcular la cantidad utilizada realmente de éstas, en el primer pozo de la hilera respectiva como se hizo anteriormente, pero expresada en mg; a su vez, se calcula la cantidad mínima de muestra que produce prueba positiva de aglutinación (título de la muestra problema).

$$MA = 2 \left( \frac{e}{3^t} \right)$$

Donde:

$e$  = Cantidad de muestra en el primer pozo (expresado en mg)

$t$  = Título o promedio de los títulos redondeado al entero inmediato

$MA$  = Cantidad mínima de muestra que produce aglutinación (expresada en mg)

$L$  = Límite de detección ( $\mu\text{g}$ )

Con los datos anteriores se puede determinar la concentración equivalente de lectina que tienen las muestras problemas de acuerdo a la siguiente expresión:

$$LE = \frac{L}{MA}$$

Donde:

$LE$  = Cantidad de lectina de referencia expresada en  $\mu\text{g}$  / mg de muestra que también equivale a 1 mg de lectina /g de muestra.

Si se establece que 1 unidad de hemaglutinación (UHG) es equivalente a 1 mg de faseolotoxina bajo las condiciones establecidas, se puede expresar los resultados en UHG / g de muestra <sup>(12,13,14,15)</sup>.

### 3.4 DETERMINACIÓN DE ÁCIDO FÍTICO.

#### Fundamento

Este método emplea una columna de intercambio iónico con el fin de purificar los extractos del ácido fítico, eliminando las fracciones menores de fosfatos de inositol que comúnmente se incluyen en otros métodos, permitiendo una cuantificación real del ácido fítico. La determinación colorimétrica se basa en la medida de la disminución de la absorbancia del complejo  $\text{FeCl}_3\text{-Ac}$ . Sulfosalicílico (Reactivo de Wade) debido al enlace del Fe (III) con el ácido fítico. <sup>(22)</sup>

#### Material y Reactivos

- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (SIGMA F-2877)
- NaCl 0.1 N y 0.7 N
- NaOH 0.5M
- HCl 0.5N y 0.1N
- Ácido Sulfosalicílico (SIGMA 5-0640)
- Ácido Fítico (SIGMA P-0109)
- Resina de intercambio iónico Dowex AG1 X8 (200- 400 mesh, Bio Rad No.de catálogo 140-1451)
- Agua destilada
- Agitadores magnéticos
- Balanza
- Vasos de Precipitados de 50 y 25 mL
- Fibra de vidrio
- Gradillas de madera
- Jeringas de 3 mL
- Matraces aforados de 25 mL
- Micropipeta de 1 y 5 mL
- Parafilm
- Pipetas Pasteur
- Probetas de 25 y 100 mL
- Tubos de ensaye de 5 mL
- Tubos para centrifuga
- Parrilla de múltiple agitación marca CORNING
- Potenciómetro Corning, 430.
- Ultracentrífuga Sorvall<sup>®</sup> RC-5B
- Espectrofotómetro Sequoia-Turner, Model 340

## Procedimiento

- Extracción del ácido fítico: se pesa 1 g de alimento (el cual debe contener menos de 5% de grasa), se coloca dentro de un vaso de precipitados de 50 mL y se le adiciona 20 mL de HCl 2.4% (0.65N), el pH de la mezcla debe estar entre 0 y 1, lo cual es necesario para disociar al fitato de complejos con minerales y proteínas. Se somete a agitación vigorosa durante 2 horas a temperatura ambiente y el extracto obtenido se transfiere cuantitativamente a unos tubos para centrifugar a 17,300g (12,000 rpm) a temperatura ambiente, una vez transcurrido este tiempo se colecta el sobrenadante.

Purificación por columna de intercambio iónico (preparación ver *Anexo 2*). Se toma una alícuota de los sobrenadantes colectados y se diluye con agua desionizada para disminuir la concentración total del anión. Se recomienda la dilución de 1:25 para alimentos que contengan 1% o más de ácido fítico, la dilución de 5:25 en caso de contener menos. Para obtener mejores recuperaciones el pH de la alícuota se ajusta a 6 (superior al punto isoelectrico de las proteínas) con NaOH 1.0 N. Posteriormente se toman 10 mL de la alícuota diluida y se transfiere cuantitativamente a la columna (previamente preparada ver *Anexo 2*). Lavar la columna con 15 mL de NaCl 0.1 N (para eliminar el fosfato inorgánico y fracciones menores de inositol) y desechar al agua de lavado. Eluir al fitato con 15 mL de NaCl 0.7 N y colectar el extracto purificado.

Determinación espectrofotométrica. Se toman 3 mL de agua desionizada (usada como blanco), o 3 mL de los estándares (soluciones de fitato de sodio conteniendo de 5 a 50 µg/mL en agua desionizada ver *Anexo 2*) o los extractos purificados a través de la columna, los cuales son previamente ajustados a pH 3 y se les adiciona 1 mL de Reactivo de Wade (0.03% de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  + 0.3% ácido sulfosalicílico en agua desionizada ver *Anexo 2*) se somete a agitación en un vortex por 5 segundos y se lee la absorbancia a 500nm.

Se utiliza una celda con agua desionizada para calibrar el espectrofotómetro en cero, se lee la absorbancia del blanco, las muestras problema y los estándares, a cada una de estas se le resta por separado el blanco para así obtener la absorbancia corregida respectiva. Realizar la curva patrón, regresión lineal, interpolar los datos y obtener la concentración de ácido fítico presente en las muestras.

Cálculos:

Muestra identificada

Peso de la muestra (g)

Volumen de HCl para la extracción: 20 mL

Dilución empleada: 1 ml/25mL

Factor: 10mL/15mL se refiere a la alícuota que se coloca en la columna de intercambio iónico y el volumen al que se lleva con la solución de NaCl 0.7 N que lo eluye.

Datos de la curva patrón (Fruhbeck).

Donde teniendo la absorbancia promedio de las muestras y la absorbancia del blanco, se puede determinar la absorbancia corregida:

$$Absorbancia_{corregida} = Absorbancia_{blanco} - Absorbancia_{experimental}$$

Se elabora una curva patrón con los datos de absorbancia contra concentración de los estándares (5-50 µg ácido fítico/mL), calculando la regresión lineal y obteniendo la ecuación de la recta, para que con estos datos se pueda interpolar el valor de la absorbancia obtenido para cada muestra, y así conocer el valor correspondiente de concentración:

$$Absorbancia_{corregida} = Pendiente (m) * Concentracion_{\mu g/ml} + Ordenada al origen (b)$$

$$Concentracion_{\mu g/ml} = \frac{(Absorbancia_{corregida} - b)}{m}$$

Para conocer la concentración en muestra se tiene que tomar en cuenta las diluciones realizadas:

$$\%_{AF} = Concentracion_{\mu g/ml} * \frac{15}{10} * \frac{1}{10^5} * \frac{25}{1.65^a} * \frac{20}{Peso_{muestra}(g)} * 100$$

<sup>a</sup> Este valor esta en función de la alícuota de sobrenadante tomada

### 3.5 DETERMINACIÓN DE TANINOS

#### Fundamento

El método se basa en la reducción del ión férrico debido a los polifenoles con la posterior formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, cuantificando espectrofotométricamente a una longitud de onda de 525nm.<sup>(23)</sup>

**Material y Reactivos**

- Acido Tánico 0.2g/100ml (SIGMA T-0125)
- Hidroxido de Amonio RA
- Agua destilada
- Citrato férrico de amônio 3.5g/L
- Dimetilformamida (DMF) 75% v/v RA
- Agitador magnético
- Balanza
- Tubos de centrifuga de 15 mL con graduación
- Tubos de ensaye de 15 mL
- Vasos de precipitados de 50 mL
- Vortex
- Gradilla metálica
- Matraces aforados de 25 mL
- Micropipeta de 1 y 5 mL
- Centrifuga EPPENDORF 5702
- Espectrofotómetro Sequoia-Turner, Model 340
- Parrilla de múltiple agitación marca CORNING

**Procedimiento**

- Pesar de 0.5 a 1g de muestra, que se coloca en un vaso de precipitados de 50 mL. Se adiciona 18 mL DMF al 75%, se agita por 1 h a 500 rpm. Se centrifuga 10 minutos a 3000 rpm y se afora a 25 mL con DMF.

Rotular 3 tubos (uno será el blanco y los demás correspondientes a la muestra problema), agregar los reactivos de acuerdo a la siguiente tabla:

**Tabla 4.** Cantidad y secuencia de cada reactivo para la determinación de taninos

| Tubo                           | Blanco | Problema 1 | Problema 2 |
|--------------------------------|--------|------------|------------|
| Muestra (mL)                   | 1      | 1          | 1          |
| Agua destilada (mL)            | 6      | 5          | 5          |
| Citrato Férrico Amoniacal(mL)  | --     | 1          | 1          |
| Amoniaco (mL)                  | 1      | 1          | 1          |
| Agitar después de cada adición |        |            |            |

Introducir los tubos en un baño a temperatura controlada a 30°C durante 10 minutos. Leer absorbancia a 525nm. Ajustar el espectrofotómetro con un blanco de agua.

- Curva patrón: Se colocan 7 matraces aforados de 25 mL y agregar 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 mL de la solución de ácido tánico (2mg/mL), respectivamente a cada matraz. Aforar con la solución de DMF al 75% la escala de la curva patrón que se obtiene corresponde al contenido de ácido tánico de 0, 80, 160, 240, 320, 400, 480 y 560 µg/mL respectivamente. Se rotulan 8 tubos de ensaye (del 0 al 7), añadir al tubo cero 1 mL de la solución DMF al 75%, al resto de los tubos agregar 1 mL de cada una de las soluciones. Adicionar 5 mL de agua destilada a cada uno de los tubos y agitar. Añadir 1 mL de la solución de citrato férrico amoniacal a todos los tubos y agitar. Por último, agregar 1 mL de amoniacal a todos los tubos y agitar. Introducir los tubos en un baño con temperatura controlada a 30°C durante 10 minutos. Leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 525nm, usando como blanco agua destilada.

Cálculos. Trazar una gráfica de absorbancia vs µg de ácido tánico, interpolar el valor de absorbancia de la muestra (diferencia de las dos absorbancias medidas = absorbancia de la muestra – absorbancia del blanco) en la gráfica. El intervalo de concentración de ácido tánico de la curva patrón va de 80 a 560 µg, reportar el % taninos presentes en las muestras. Teniendo la interpolación de la concentración de ácido tánico de la muestra problema, se tiene:

$$\frac{\mu g_{\text{ácido tánico}}}{mL} * 25mL = \mu g_{\text{ácido tánico}}$$

$$\frac{\mu g_{\text{ácido tánico}}}{g_{\text{muestra}}} * 100 = \frac{\mu g_{\text{ácido tánico}}}{100g_{\text{muestra}}}$$

$$\frac{\mu g_{\text{ácido tánico}}}{100g_{\text{muestra}}} * \frac{1mg}{1000\mu g} * \frac{1g}{1000mg} = \frac{g}{100g_{\text{muestra}}} = \% \text{ Ácido Tánico}$$



---

## 4. Métodos de análisis estadísticos

Para la realización del análisis de los componentes evaluados, se estudiaron previamente los resultados obtenidos, en donde se observaron valores que de manera inexplicable diferían del resto, a esto se le denominó "numero anómalo", en donde se puede atribuir a un error humano o experimental, esto se debe corroborar y comprobar estadísticamente, para decidir si serán rechazados o no. Una forma de estudiar una medida sospechosa es comparar la diferencia entre ella y la medida más próxima en tamaño con la diferencia entre las medidas más grande y más pequeña. El coeficiente de estas diferencias se denomina Q de Dixon, para ello se utiliza los valores críticos reportados en tablas a una  $p \leq 0.05$ , por lo tanto si el valor de Q calculado es superior al valor crítico, se rechaza y se considera un valor anómalo.

El principal objetivo del análisis estadístico es probar si en un grupo de muestras, hay igualdades o diferencias, con base en los parámetros dependientes evaluados (lectinas, metionina, taninos, ácido fítico y proteína). El Sistema de Análisis Estadístico (SAS) cuenta principalmente con dos procedimientos para realizar el análisis de varianza, ellos son el 'proc anova' y el 'proc glm.' Ambos procedimientos en su forma general son lo mismo; la diferencia radica, en que cuando se tiene el mismo número de observaciones para cada nivel de un factor (es decir, no hay datos perdidos) se puede usar cualquiera de las dos. Sin embargo, es recomendable utilizar el 'proc glm' cuando se tienen situaciones no balanceadas, esto es, cuando los niveles de las variables independientes tienen un diferente número de datos.

Por lo tanto, como se tiene diferente número de repeticiones, el estudio estadístico es desbalanceado, con base en Tukey al nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ , en donde se determinaron los promedios (*Tabla 5*), y conjuntamente se graficó la distribución normal por medio de un procedimiento univariado, para obtener la distribución ajustada de las 50 poblaciones de frijol nativas para cada uno de los componentes evaluados, para observar la tendencia encontrada en dichas variedades. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS ver. 8.1 (SAS, 2000).

---

proc – procedimiento a emplear (ordenados, graficados, correlacionados, ANOVA, análisis de regresión, etc.)

## 5. Resultados Y Discusión

**Tabla 5.** Contenido de lectina, ácido fítico, taninos, proteína y metionina de 50 poblaciones de frijol nativas.

| Población   | Lectinas* | Acido Fítico** | Taninos** | Proteína** | Metionina*** |
|-------------|-----------|----------------|-----------|------------|--------------|
| CPMEX02-11  | 2.95      | 0.755          | 0.484     | 18.63      | 2.48         |
| CPMEX02-22  | 48.56     | 1.35           | 0.466     | 19.77      | 2.32         |
| CPMEX02-30  | 55.11     | 1.02           | 0.425     | 20.80      | 1.92         |
| CPMEX02-32  | 8.00      | 0.825          | 0.510     | 19.29      | 2.57         |
| CPMEX02-34  | 77.78     | 1.05           | 0.620     | 21.24      | 2.01         |
| CPMEX02-39  | 13.44     | 0.863          | 0.722     | 19.85      | 2.11         |
| CPMEX02-51  | 2.02      | 1.15           | 0.598     | 20.19      | 1.79         |
| CPMEX02-52  | 14.85     | 0.765          | 0.560     | 21.81      | 2.04         |
| CPMEX02-55  | 54.40     | 1.12           | 0.660     | 19.00      | 2.42         |
| CPMEX03-14  | 17.28     | 1.04           | 0.376     | 17.96      | 2.68         |
| CPMEX03-16  | 19.60     | 0.734          | 0.498     | 18.36      | 1.77         |
| CPMEX03-20  | 58.20     | 0.851          | 0.661     | 18.99      | 2.42         |
| CPMEX03-22  | 3.53      | 1.01           | 0.482     | 19.42      | 1.59         |
| CPMEX03-24  | 15.28     | 1.34           | 0.515     | 19.53      | 2.28         |
| CPMEX03-26  | 21.67     | 0.831          | 0.614     | 19.01      | 2.87         |
| CPMEX03-29  | 97.85     | 0.922          | 0.576     | 18.36      | 2.57         |
| CPMEX03-30  | 7.87      | 1.00           | 0.540     | 21.32      | 1.68         |
| CPMEX03-32  | 19.64     | 1.07           | 0.502     | 21.47      | 2.08         |
| CPMEX03-38  | 42.78     | 0.873          | 0.708     | 22.06      | 2.22         |
| CPMEX03-48  | 6.62      | 0.985          | 0.434     | 18.21      | 2.57         |
| CPMEX03-63  | 41.35     | 0.965          | 0.604     | 18.72      | 2.42         |
| CPMEX03-66  | 53.42     | 0.928          | 0.600     | 19.07      | 2.84         |
| CPMEX03-68  | 5.09      | 1.07           | 0.600     | 21.43      | 2.75         |
| CPMEX03-72  | 22.38     | 0.918          | 0.540     | 19.02      | 2.74         |
| CPMEX04-99  | 18.19     | 0.810          | 0.498     | 17.78      | 2.83         |
| CPMEX04-100 | 2.03      | 0.901          | 0.682     | 17.63      | 2.90         |
| CPMEX04-122 | 8.46      | 0.960          | 0.406     | 19.32      | 2.39         |
| CPMEX05A-7  | 17.17     | 1.20           | 0.592     | 22.69      | 2.42         |
| CPMEX05A-8  | 125.83    | 1.04           | 0.467     | 17.26      | 2.93         |
| CPMEX05A-12 | 54.63     | 0.998          | 0.622     | 22.28      | 2.74         |
| CPMEX05A-14 | 2.84      | 1.01           | 0.592     | 17.93      | 2.30         |
| CPMEX05A-15 | 35.57     | 1.01           | 0.680     | 18.73      | 2.72         |
| CPMEX05A-17 | 48.28     | 1.01           | 0.592     | 20.38      | 3.03         |
| CPMEX05A-18 | 22.52     | 0.645          | 0.588     | 18.71      | 2.89         |
| CPMEX05A-22 | 63.86     | 1.23           | 0.563     | 19.43      | 1.87         |

| <b>Variedades</b>      | <b>Lectinas*</b> | <b>Acido Fítico**</b> | <b>Taninos**</b> | <b>Proteína**</b> | <b>Metionina***</b> |
|------------------------|------------------|-----------------------|------------------|-------------------|---------------------|
| CPMEX05A-24            | 13.92            | 1.00                  | 0.555            | 20.27             | 2.95                |
| CPMEX05A-26            | 5.82             | 0.772                 | 0.602            | 19.54             | 2.53                |
| CPMEX05A-28            | 11.93            | 1.12                  | 0.546            | 20.14             | 2.77                |
| CPMEX05A-30            | 5.85             | 0.913                 | 0.608            | 21.60             | 2.66                |
| CPMEX05A-32            | 18.20            | 0.888                 | 0.650            | 19.62             | 2.98                |
| CPMEX05B-19            | 17.28            | 1.00                  | 0.788            | 20.11             | 2.74                |
| CPMEX05B-20            | 15.94            | 1.10                  | 0.616            | 21.11             | 2.82                |
| CPMEX05B-26            | 51.97            | 1.00                  | 0.604            | 20.49             | 2.80                |
| CPMEX05B-48            | 20.26            | 0.793                 | 0.572            | 21.61             | 2.68                |
| MICH-O6-1              | 17.95            | 1.07                  | 0.854            | 18.60             | 2.56                |
| MICH-O6-2              | 22.24            | 1.01                  | 0.610            | 18.93             | 2.63                |
| MICH-O6-3              | 20.13            | 1.28                  | 0.660            | 17.64             | 2.03                |
| OAX-O5-1               | 16.35            | 0.640                 | 0.806            | 18.16             | 2.41                |
| OAX-O5-3               | 7.77             | 0.675                 | 0.738            | 19.78             | 2.36                |
| Montecillo<br>De Bordo | 20.97            | 0.880                 | 0.548            | 21.31             | 2.65                |
| <b>Promedio</b>        | <b>27.71</b>     | <b>0.9706</b>         | <b>0.5850</b>    | <b>19.70</b>      | <b>2.462</b>        |
| <b>CV</b>              | <b>69.95</b>     | <b>4.096</b>          | <b>2.132</b>     | <b>1.304</b>      | <b>8.353</b>        |
| <b>DMS</b>             | <b>37.314</b>    | <b>0.0894</b>         | <b>0.0321</b>    | <b>1.108</b>      | <b>0.3885</b>       |

Con base en Tukey al nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ .

Los valores representan, las medias expresadas en:

\* UHG/g muestra (donde 1UHG = unidad de hemaglutinación equivalente a 1mg de faseolotoxina; n= 10)

\*\* % o g analito/100g muestra (AF = ácido fítico; taninos = ácido tánico y Proteína = N x 6.25; n = 8,6 y 3 respectivamente)

\*\*\* g metionina/ 100 g proteína (equivalente a g metionina/16g N; n = 10)

### **5.1 Determinación Cuantitativa de Lectinas**

El valor nutritivo de algunos alimentos, como los granos de ciertas leguminosas, es mucho menor del que se podría esperar en relación con su composición química, debido a la presencia de factores tóxicos (saponinas, glucósidos cianogénicos, lectinas, etc.) que reducen la disponibilidad biológica y la digestibilidad de uno o más nutrientes. Algunos de estos factores antimetabólicos pueden ser inactivados con tratamientos térmicos.

Por diversas razones, el estudio de leguminosas como garbanzo, lentejas y frijol como fuente de proteína en la alimentación humana y animal ha sido limitado; por lo anterior el presente estudio se dirigió a la ampliación del conocimiento del valor nutritivo y los factores que limitan el aprovechamiento racional de un conjunto de poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris*), cultivadas y consumidas en la región Chalco-Amecameca en el suroeste del estado de México, cultivadas en asociación con maíz.

Con este fin, inicialmente se tomaron como base los resultados obtenidos previamente en la determinación de lectinas en forma semi-cuantitativa<sup>(10)</sup>. El presente estudio proporcionó un panorama general del contenido de hemaglutininas en el grupo (*Tabla 5*), además de proporcionar una idea del tratamiento de las muestras, de la necesidad de realizar diluciones y definir el número de repeticiones debido a la sensibilidad del método, el cual fue un hecho importante en la determinación de dicho factor tóxico.

La cuantificación de lectinas se hizo a partir de 2 extractos crudos por muestra, y en cada muestra se realizaron 5 determinaciones, por lo tanto se tuvieron como mínimo 10 observaciones individuales en cada una de las 50 muestras, con la finalidad de aprovechar de manera positiva la sensibilidad del método, así como asegurar la reproducibilidad y repetitividad de manera confiable.

Estos resultados reflejan de forma más precisa el contenido real de lectinas, expresado en unidades de hemaglutinación por gramo de muestra (UHG/g <sub>muestra</sub>), donde 1 UHG es equivalente a 1 mg de faseolotoxina (SIGMA L-8754).

Además, se aplicaron pruebas de normalidad para observar la distribución de este factor tóxico en la población (*Figura 4*), en esta distribución se observa un sesgo positivo y, por lo tanto, está muy lejos de un comportamiento normal; ya que un grupo bastante amplio mostró una tendencia a valores mínimos, en el intervalo de 2 a 25 UHG/g <sub>muestra</sub>, aunque un segundo grupo muestra un

contenido medio de lectinas (25 a 78 UHG/g *muestra*), y finalmente un pequeño grupo y alejado del resto, que es de un alto contenido de lectinas, entre 97.85 y 125.83 UHG/g *muestra*. Estos resultados indican claramente una diferencia significativa y la variación observada en el grupo, puede ser atribuida principalmente a factores genéticos propios de cada variedad dentro de la misma especie. Por lo que el coeficiente de variación es muy alto, indicando que la variación poblacional es amplia dentro de este grupo varietal. En este grupo poblacional la mayoría de las variedades presentan contenidos bajos (70%) a altos (30%) de lectinas.

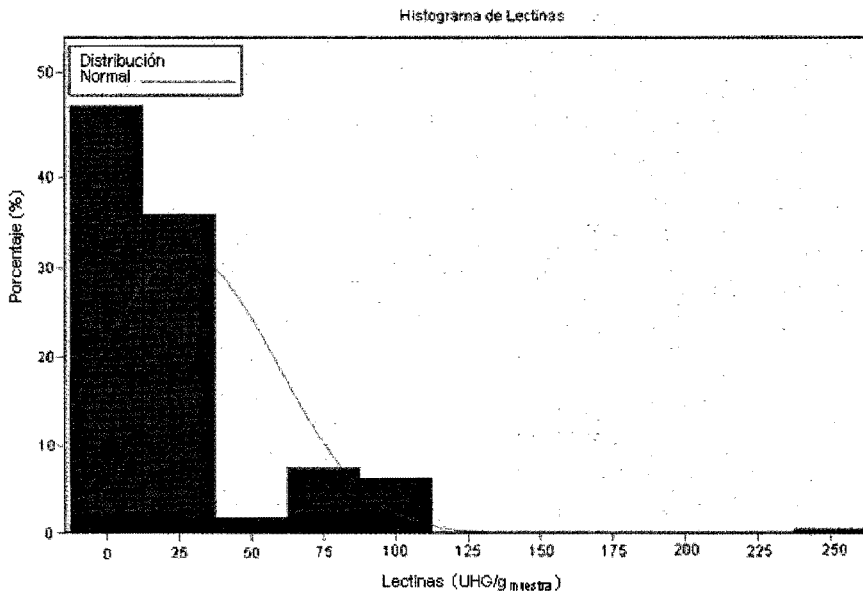


Figura 4. Distribución de contenido de lectinas en 50 poblaciones nativas de frijol común.

La distribución poblacional muestra la amplia fluctuación entre las variedades del grupo (*figura 4*), desde un valor mínimo de 2.02 UHG/g *muestra* que corresponde a la variedad CPMEX0251 y hasta el valor máximo de 125.83 UHG/g *muestra* en la variedad CPMEX05A08.

### 5.2 Contenido de Ácido Fítico

En lo que respecta al ácido fítico (*Figura 5*), las pruebas de normalidad muestran un comportamiento casi normal, ya que la media es 0.9706 % AF, y con una ligera mayor proporción

de valores menores al promedio general (46 %); resalta claramente que el contenido de AF en las variedades de frijol común estudiadas en un intervalo de 0.6 a 1.35 %AF es similar al observado en algunos cereales como arroz entero (*Orizae sativa*) (0.86 a 0.99 %), trigo (*Triticum aestivum*) (valores mayores: a 1.13%); en maíz (*Zea mays*) (0.77 a 0.99%), en sorgo (*Sorghum vulgare*) (0.82 a 0.96 %), en cebada (*Hordeum vulgare*) y avena (*Avena sativa*) los niveles de AF obtenidos son 0.99% y 0.77%: así como en otras leguminosas como el grano de haba (*Vicia faba*) cuyos niveles de AF oscilan entre 0.71 y 1.15%, mientras que la cáscara contiene sólo de 0.06 a 0.20% de AF; en chícharo (*Pisum sativum*) es entre 0.75 a 0.94%; en frijol de vaca (*Vigna unguiculata*) el AF constituye 0.77%; en lentejas (*Lens culinaris*) y garbanzos (*Cicer arietinum*) los niveles de AF son de aproximadamente 0.7%. En términos generales 50 % del grupo poblacional mostró valores iguales o mayores a 1.0, es decir que el contenido de algunas poblaciones nativas de frijol tienen mayor contenido de ácido fítico que los cereales y otras leguminosas, observándose un valor máximo de 1.35 % en la población CPMEX02-22.<sup>(22,24)</sup>

Es de resaltar que la metodología empleada es bastante específica, y logró distinguir gran cantidad de grupos con diferentes contenidos de ácido fítico, cuya comparación con valores obtenidos en otros estudios con diferentes especies muestra que están dentro del intervalo, y que algunas poblaciones superan esos valores. Este resultado es altamente relevante, ya que el valor nutracéutico de este germoplasma por su contenido de ácido fítico, lo haría útil para obtener variedades con alto potencial en este.

En las dos últimas décadas se han realizado importantes avances en el conocimiento del AF, ya que se han descrito nuevos papeles fisiológicos en la planta, y, se han descubierto nuevos efectos benéficos para la salud en contraposición con los efectos adversos conocidos para los humanos; sin embargo, dado que la mayoría de los aspectos favorecedores del AF han sido encontrados en investigaciones *in vitro* o *in vivo*, en animales y estudios epidemiológicos, serían necesarias más indagaciones *in vivo* en el hombre, para evaluar tanto los efectos adversos como los potenciales aspectos benéficos del consumo de Ácido Fítico.

El intervalo de variación en el contenido de ácido fítico en esta muestra poblacional se encuentra entre 0.64 % (OAX05-1) y 1.35 % (CPMEX0222) (Tabla 5), con un alto porcentaje de poblaciones con valores iguales o mayores a 1 % AF. El coeficiente de variación bajo (4.096) indica que las diferencias observadas son atribuibles principalmente a diferencias varietales.

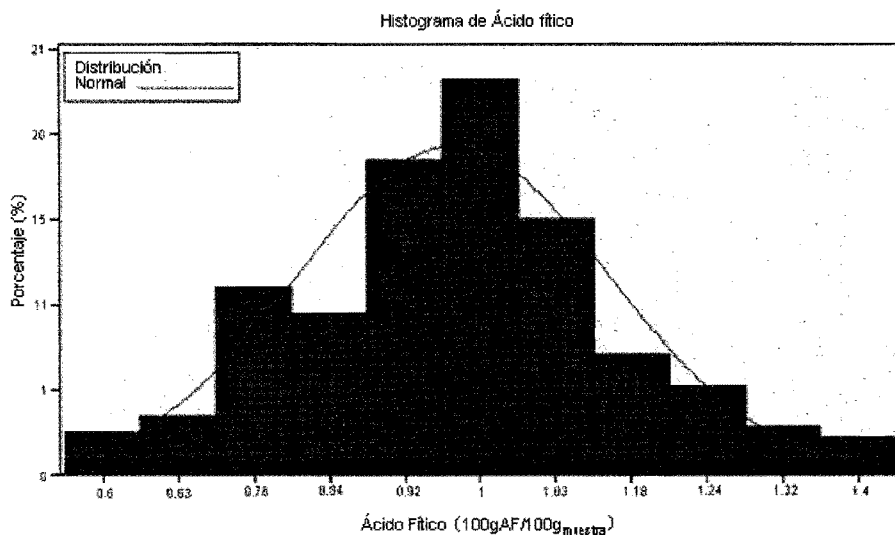


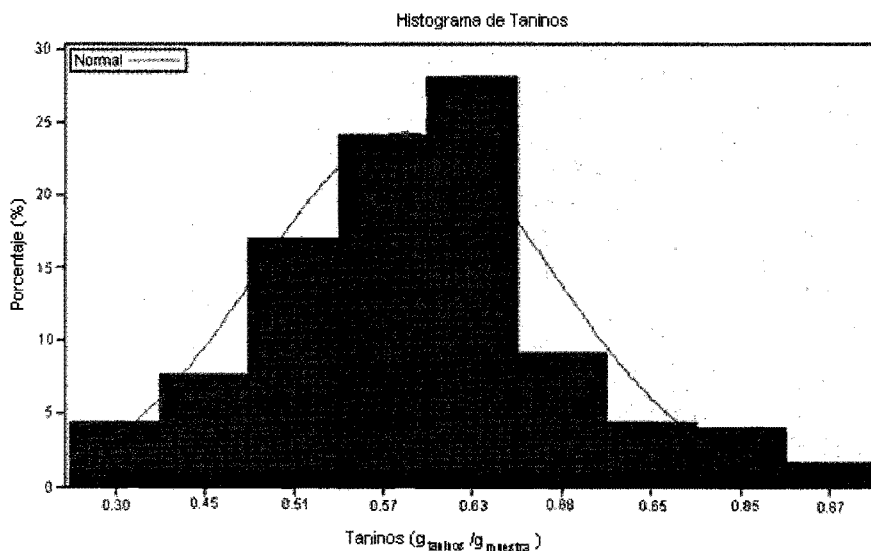
Figura 5. Distribución del contenido de Acido Fítico en 50 poblaciones nativas frijol común

### 1.3 Determinación de Taninos

El frijol contiene una variedad de factores antinutrientales que interfieren en la disponibilidad de los nutrimentos causando un efecto negativo en el crecimiento de los animales. La concentración de estos factores es variable y sus efectos biológicos distintos. En particular, los taninos en las leguminosas son compuestos que se localizan en la testa de las semillas cuyo efecto mayor en los animales monogástricos está relacionado con su capacidad para formar complejos con las proteínas, haciéndolas no biodisponibles; aunque, también pueden ejercer un efecto benéfico en la salud humana por su actividad antioxidante como captadores de radicales libres, por lo cual previenen y mejoran enfermedades cardiovasculares, y parecen ejercer actividad anticancerígena.

En legumbres y cereales los principales compuestos fenólicos son los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, el contenido de estos en cereales es < 1 %, excepto para alguna variedad de sorgo (*Sorghum bicolor*) en los que alcanzan contenidos superiores al 10%. Los taninos son considerados sustancias antinutritivas presentes en las judías y en los guisantes, encontrándose en concentraciones del 2 % expresados como equivalentes de catequinas (indica la presencia de antocianidinas) o ácido tánico. Las legumbres con un mayor contenido de taninos son las de color oscuro entre las que destacan las judías rojas y negras.

La importancia nutricional de este amplio grupo de compuestos no solo radica en conocer la concentración de ellos en los alimentos, también su biodisponibilidad con otros componentes de la dieta, con base en lo anterior y debido a la importancia, la distribución de taninos, y con base en las pruebas de normalidad (Figura 6), se observa que no es un comportamiento normal, al igual que como se presentó en AF, pero se ve una tendencia hacia un sesgo negativo, sin embargo se puede decir que el contenido del grupo oscila en un intervalo de 0.376 (CPMEX0314) a 0.854 % (MICH06-1), con un valor medio de 0.585 % ,en la (Figura 7) , aproximadamente 50 % ( 27 de 50) de las poblaciones presenta valores superiores al promedio, pero se considera bajo con lo reportado en la literatura (2 %), aunque hay que destacar que para el caso del frijol de manera específica se ha observado que el máximo valor de taninos es de 0.8 % en frijol rojo (*Vigna sinensis*) y el más bajo es de 0.3 % en frijol pelón (*Vigna unguiculata*), al igual que también se pueden encontrar valores < a 0.3 %, como el frijol alado (*Psophocarpus tetragonolobus*) con 0.26 % y Quinchoncho (*Cajanus cajan*) 0.27 %, destacando valores traza como es en el frijol bayo (*Vigna unguiculata*) del 0.077 %, comparando lo obtenido en el presente estudio, se observó que se está dentro del intervalo, donde se resalta que en base a la metodología utilizada se logró distinguir gran cantidad de grupos con diferentes contenidos de taninos y que algunas variedades superan por poco esos valores, por lo anterior se destaca una gran variabilidad que hay dentro de este grupo y de la misma especie.<sup>(25)</sup>



**Figura 6.** Distribución del contenido de taninos en 50 poblaciones nativas de frijol común.



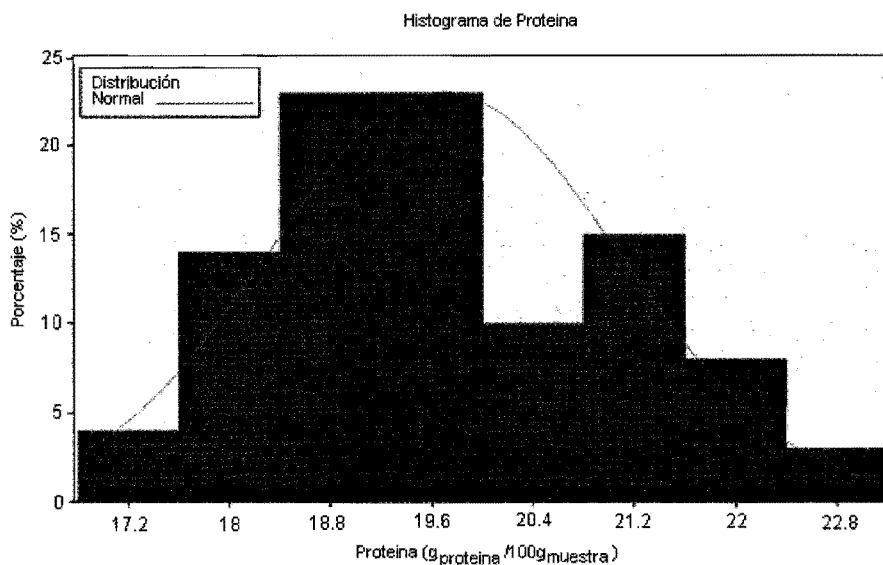
En la actualidad se tiene poca información acerca del consumo de compuestos fenólicos a través de la dieta y los principales estudios sobre este tipo de compuestos se han realizado sobre la ingesta de flavonoides. La contribución relativa de los diferentes alimentos vegetales a la ingesta total de estos compuestos dependerá del grado de consumo de otros recursos dietéticos ricos en dichos compuestos como el té, el vino, el café, los cereales y otras leguminosas. Por lo tanto, es de vital importancia dar a conocer los efectos positivos de este tipo de compuestos antioxidantes, que se encuentran en forma natural en el frijol común, para un aprovechamiento máximo y promover tanto el cultivo como el consumo de variedades que no son conocidos a nivel industrial.<sup>(26,27)</sup>

### 5.4 Determinación de Proteína y Metionina

Debido a que en los últimos años se ha venido buscando la forma de mejorar la calidad proteínica de esta leguminosa (frijol común) es necesario profundizar en el estudio de determinadas características físicas, químicas, nutricionales y ambientales de ciertos cultivares de frijol. Para ello se evaluaron algunas de estas características.

Con base en los antecedentes, se sabe que el valor nutrimental de un alimento proteínico depende de su composición en aminoácidos, así como de la biodisponibilidad. Por lo tanto si contiene un porcentaje menor que el necesario de alguno de los aminoácidos esenciales, su valor nutrimental será proporcionalmente menor que el que tendría si contiene una proporción suficiente de todos ellos. Por lo cual es necesario prestar especial atención a los contenidos de proteína y en el caso de metionina biodisponible en las variedades evaluadas. Con respecto a la cantidad de proteína, y con base en las pruebas de normalidad se puede observar la tendencia de las variedades evaluadas así como su comportamiento a lo largo de la población (*Figura 7*), donde se destaca claramente, que el contenido de proteína en las variedades estudiadas de la población de frijol común *Phaseolus vulgaris* varió de 17.2% a 22.8 %.

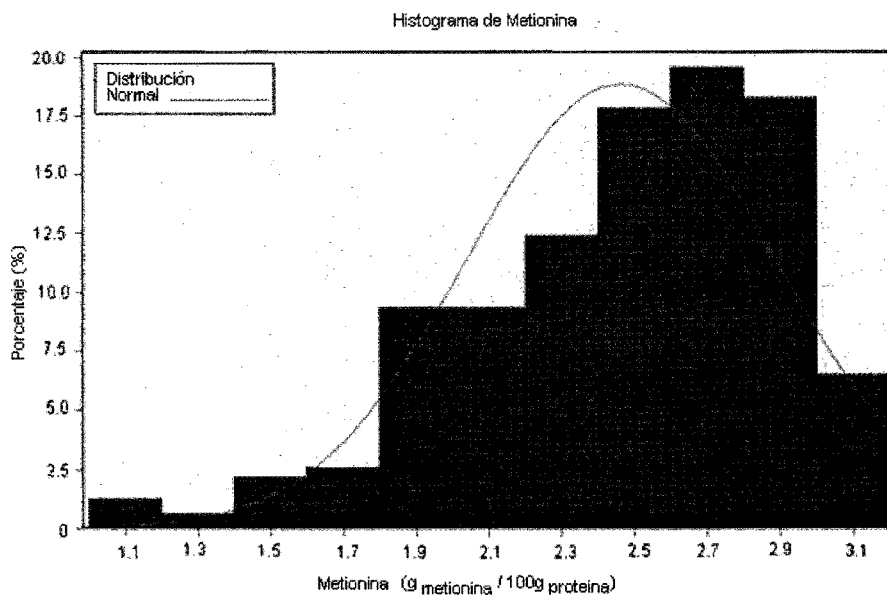
Mientras que el contenido de proteína en promedio fue de 19.60 % el cual se encuentra muy cerca del valor encontrado en tablas, que es alrededor de 20 %. Con esto se corrobora que es un alimento con alto contenido proteínico. Esto es de sumo interés ya que revela un comportamiento homogéneo que muestran estas variedades de frijol común, y la ausencia de variaciones importantes puede deberse, a la igualdad de condiciones ambientales en su desarrollo.



**Figura 7.** Histograma de Proteína, comportamiento de este factor nutricional e indicativo de cantidad de proteína en las 50 variedades de frijol común estudiadas

Con respecto en la comparación de medias con base en la prueba de Tukey (*Tabla 5*), en donde se muestra el contenido de %Proteína. Se visualiza de manera puntual que la variedad que tuvo el valor mínimo de proteína fue la CPME05A08 con 17.26 %, y la de valor máximo fue CPME05A07 con 22.69 %.

La determinación de este parámetro, es necesario para poder cuantificar el contenido de metionina de las 50 variedades de frijol, ya que se requiere pesar la cantidad de muestra con base en el nivel proteínico; además, es conveniente reportar el contenido de este aminoácido en términos de g/100g<sub>proteína</sub>. Adicionalmente esto tiene gran relevancia debido a que la metodología de metionina es muy sensible, y al sobrepasar los valores establecidos, no entraría dentro de la curva patrón y se tendría que repetir el procedimiento.



**Figura 8.** Distribución del contenido de metionina en 50 poblaciones nativas de frijol común.

La curva de distribución muestra claramente la tendencia a concentrar el contenido de este aminoácido en valores superiores a la media (2.50 %), entre 2 – 3 %, con un comportamiento no normal. Estos resultados son importantes dado que los niveles de metionina en frijoles, observados varía en un intervalo de 0.44 a 2.09 % (FAO). En tanto que los resultados de este estudio muestran un intervalos de variación de 1.59 a 3.03 % que es superior a los valores que se encuentran en la literatura; estos resultados muestran que el grupo poblacional tiene un grado de variación amplio y que estas poblaciones tienen un alto potencial por su alto valor nutricional, y además como posibles fuentes de germoplasma para el desarrollo de variedades ricas en metionina; sin embargo sería necesario corroborar estos resultados para establecer con plena seguridad las diferencias encontradas e incluir en la evaluación algunas variedades de uso común de otras regiones y hábitos de crecimiento.

Se obtuvo una diferencia entre las variedades que se muestran en los límites de menor y mayor contenido de metionina, no son las mismas que se presentaron en el caso de la proteína, aquí se identificó que la variedad con el contenido menor de metionina corresponde a CPMEX0322 con un

valor de 1.59 % y la de mayor a CPME05A17 con 3.03 % en donde la primera entra en el intervalo establecido y la segunda se sale completamente.

Estos en comparación con CPME05A08 y CPME05A07 contienen 2.93 y 2.42 % respectivamente, en donde resalta una relación inversa de estos dos parámetros, y refiriéndose a su contenido de proteína la CPME0322 muestra 19.42 % y la CPME05A17 con 20.38 % se observa una relación proporcional, lo que indica la necesidad de probar otro método para evaluar la metionina en donde se minimicen los errores experimentales, y posteriormente comparar los resultados con los del presente estudio, y así se pueda discutir de manera confiable la relación que puedan o no tener estos parámetros. Esto es atribuido al saber que en general, las leguminosas son consideradas principalmente como fuentes de proteína, razón por la cual existe una gran abundancia de datos sobre su composición. La riqueza en proteína de estas semillas es bastante variable entre y dentro de los mismos genotipos. Con respecto a la cantidad de aminoácidos esenciales, se sabe que poseen una menor riqueza en aminoácidos azufrados. En general, el porcentaje de cada aminoácido está altamente correlacionado con la proporción de proteína, y esta relación parece ser independiente del genotipo y factores ambientales. Como consecuencia los aminoácidos no se encuentran en proporción fija de la proteína total. Cuando el contenido de proteína disminuye la proporción de algunos aminoácidos aumenta, especialmente en el caso de la lisina y aminoácidos azufrados como metionina y triptófano; en otras palabras, cualquier incremento en el contenido de proteína de las leguminosas se esperaría una correlación positiva, es decir, a mayor cantidad de proteína, mayor contenido en su aminoácido limitante, lo que lleva consigo un aumento de la calidad de ésta referida al perfil de sus aminoácidos.

---

## Conclusiones

- El nivel de lectinas en las 50 variedades estudiadas es variable, se encontraron variedades con alto, mediano y bajo nivel de estas enterotoxinas, aunque la mayoría tendía a un bajo contenido. Esta variabilidad se atribuyó a las condiciones climatológicas y de la genética que se presentó dentro de una misma especie (*Phaseolus vulgaris*).
- Con base en la determinación cuantitativa de lectinas, se observó un mínimo de 2.02 UHG/g<sub>muestra</sub> y un máximo de 125.83 UHG/g<sub>muestra</sub>.
- Con respecto al ácido fítico se obtuvieron valores muy interesantes, mostrando una gran variabilidad entre las variedades estudiadas, teniendo como valor máximo 1.35 %AF y un mínimo de 0.640 %AF, que son muy similares a los reportados en la literatura o están dentro del intervalo, y así aprovechar la información obtenida, para realizar bioensayos para correlacionar el efecto benéfico del AF, manteniendo invariable los otros parámetros analizados.
- Se obtuvo una amplia variabilidad en taninos, un mínimo de 0.376 %Taninos y un máximo de 0.854 %Taninos, y debido a que actualmente ha surgido que estos compuestos tienen efectos benéficos para la salud es de gran importancia aprovechar al máximo para aumentar el consumo de estas variedades que no son conocidos a nivel industrial, (siempre y cuando se realicen los estudios pertinentes que indiquen su efecto benéfico, como estudiar el riesgo-beneficio de la incorporación o eliminación de algunos de estos compuestos en la dieta).
- En contenido de proteína en las muestras es muy homogéneo, observándose un intervalo de 17.20 % a 22.80 %, con una media de 19.70 %, el cual es muy similar al reportado en la literatura (20 – 25 %).
- Los niveles de metionina encontrados variaron en un intervalo de 1.59 a 3.03 % mostrando un grado de variación amplio, con un alto potencial nutricional; aunque había que confirmar estos datos con otro método validado.

---

## Recomendaciones

El atributo nutricional más importante de las leguminosas es su efecto suplementario sobre las dietas compuestas por cereales, pero dicho efecto está limitado por la deficiencia de aminoácidos azufrados y por los llamados factores antinutricionales. En consecuencia, estos factores limitantes son de importancia por su origen genético y por tanto, se deben considerar prioritarios en los diversos programas de mejoramiento genético.

Es importante el contenido de los metabolitos secundarios, muchos de los cuales pueden tener efectos benéficos para la salud, y sería interesante estudiar el riesgo-beneficio de la incorporación o eliminación de algunos de estos compuestos en la dieta, con el fin de impactar positivamente en la salud de la población.

Dado que la mayoría de los aspectos benéficos del AF son derivados de investigaciones *in vitro*, en animales o de estudios epidemiológicos, serían necesarias más investigaciones en el hombre que evaluaran conjuntamente los efectos adversos y los potenciales aspectos beneficiosos del AF de la dieta.

Debido a los datos obtenidos de metionina, es recomendable buscar otro método más adecuado para su determinación, que no sobreestime los resultados obtenidos.

---

## Bibliografía

1. Schoonhoven, A. Van and Voyses, O. 1991. Common beans: Research for crop improvement. C.A.B International in association with CiAT, Wallingford, pp. 200-216, 649-671.
2. Engleman E. 1979. Contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. Colegio de Postgraduados, Texcoco, pág. 59-82, 101-137.
3. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. 1990. Utilización de alimentos tropicales. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma 47/4, págs.1-11, 45-51.
4. Paredes, O. Guevara, F. y Arturo, L. 2006. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. Fondo de Cultura Económica, México, D. F. pág. 59-88.
5. Sharon E. and Lilian U. 1997. Interactions and Biological Effects of Phytic Acid. American Chemical Society, Toronto, pp. 294-31.
6. [http://www.pnctacoca-cola.com.mx/pages/pncta\\_investigaciones\\_07i.asp?page=07e8](http://www.pnctacoca-cola.com.mx/pages/pncta_investigaciones_07i.asp?page=07e8)  
Identificación de materiales de frijol con alto potencial nutricional y nutraceutico. Centro de investigación y de estudios Avanzados del IPN Campus Guanajuato. Laboratorio de Biotecnología de Alimentos. 2009, 15/01/09.
7. Nadal, M. Moreno, Y. y Cubero, S. 2004. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Mundi Prensa y Consejería de Agricultura y Pesca. España. pág. 80-88.
8. Rojas, A. y Soriano, B. 2006. El uso del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) como planta medicinal. Tesina del Diplomado de Tlahui-Educa. No. 21.
9. Serrano, J. y Goñi, I. 2004. Papel del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) en el estado nutricional de la población guatemalteca, Archivos Latinoamericanos de Nutrición (SLAN), 54:36-44.

10. Albor, A. R. 2008. Procesamiento térmico óptimo sobre la calidad nutritiva de una variedad de frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Tesis de la Facultad de Química, UNAM, México, pág. 10-15.
11. Rocandío, R. M. 2008. Diversidad morfológica y agronómica de poblaciones nativas de frijol común cultivadas en asociación con maíz. Tesis de Posgrado, Colegio de Postgraduados de Chapingo, Texcoco. pág. 1-20.
12. Kay, D. 1985. Leguminosas alimenticias. Acribia, S.A. Zaragoza, España, pág. 136-185.
13. <http://www.cepis.org.pe/eswww/fulltext/toxicolo/toxico/toxico.pdf>. Toxicología de alimentos. 2000. ISBN 92 75 37004 4, Pedro Valle, Bernardo Lucas, 15/12/08.
14. Janisman, A. Hill, G. Huisman, J. and Van der Poel, A. 1998. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and rapeseed. EAAP Publication Wageningen Pers, No. 93, pp. 219-232, 429-432.
15. Jaffé, G. y Brucher, O. 2008. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles. Archivos Latinoamericanos de Nutrición (SLAN), 33: 851-853.
16. Shaidi, F. 1997. Antinutrients and phytochemicals in food. American Chemical Society, Washington, D.C. pp. 31-43.
17. Cameán, A. y Repetto, M. 2006. Toxicología alimentaria. Días Santos. Madrid, España, pág. 193-245.
18. García, F. D. 1998. Desarrollo de una metodología cuantitativa en la determinación de lectinas en frijoles y su correlación con su toxicidad subaguda. Tesis, Facultad de Química, UNAM, México, pág. 5-20.
19. Conrath, T. B. 1972. Handbook of microtiter procedures Dynatech Corp; Cambridge, Mass USA. pp. 1-29.



20. Cooke Engineering Company of microtiter (Instruction Manual) 4ª. Edition, Alexandria, Virginia pp. 85-105 (1969).
21. Castillo, J. K. 2007. Variación en el contenido de ácido fítico debido al progreso de germinación en cereales. Tesis, Facultad de Química UNAM, México, pág. 1-40.
22. Martínez, D. Ibáñez, G. y Rincón, L. 2002. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. Archivos Latinoamericanos de nutrición (SLAN), 52:219-231.
23. ISO 9648-1988. Determination of tannin content in sorghum ASTM, 1ª Edición, pág. 12-15 (1988).
24. Sotelo, L. A. y Braun, B. 2003. Comparación bromatológica y de factores tóxicos entre el frijol canchali (*P-Lunatus*) y frijol peruano (*P. vulgaris*) consumidos en San Miguel Totolapan, Gro. Tesis, Facultad de Química, UNAM, México, pág. 30-35.
25. Martine-Valverde, I. Periago, M. y Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta, Archivos latinoamericanos de Nutrición (SLAN), 50:5-18.
26. Parr, J. Bolwell, P. Review. 2000. Phenols in the plant and in man: The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile, J. Sci. Food. Agr.80:985-1012.
27. Njaa, A. 1980. Method for determination of unoxidized and total methionine in protein concentrates, with especial referente to fish meals. Br. J. Nutr. 43:339-342.

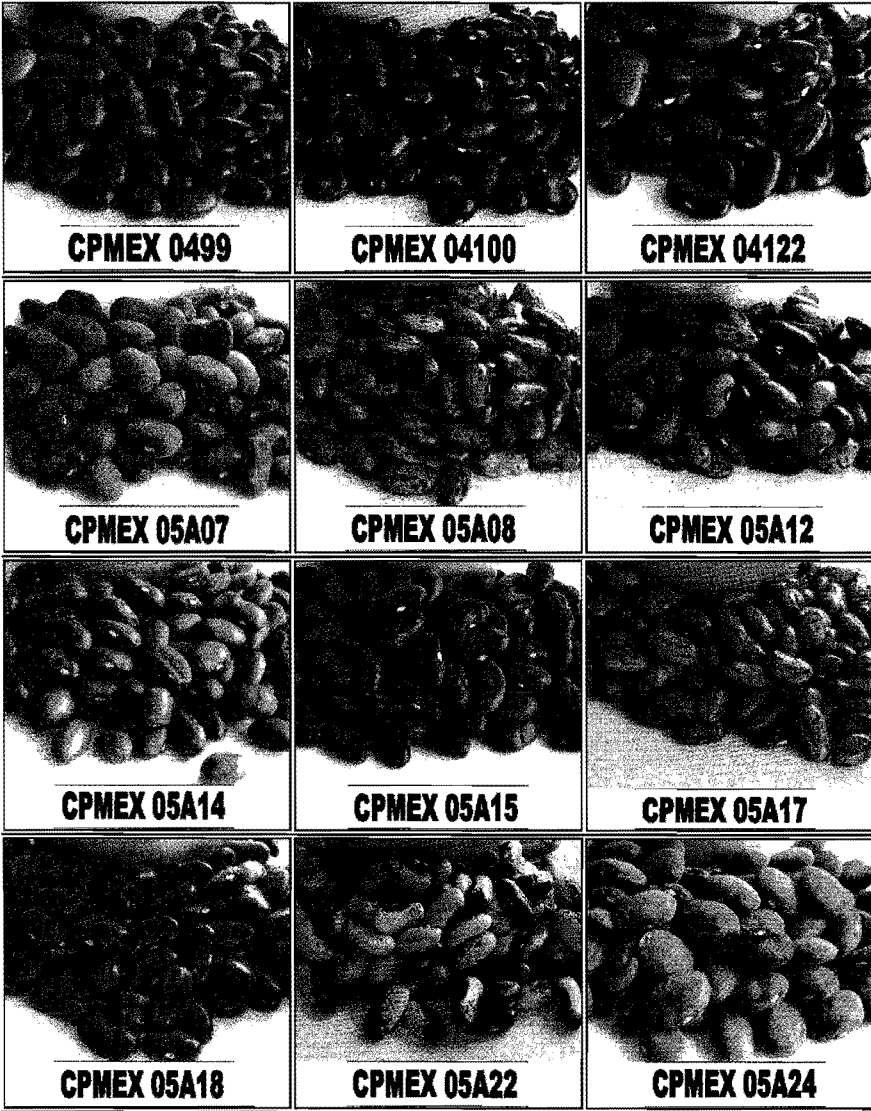
# Anexos

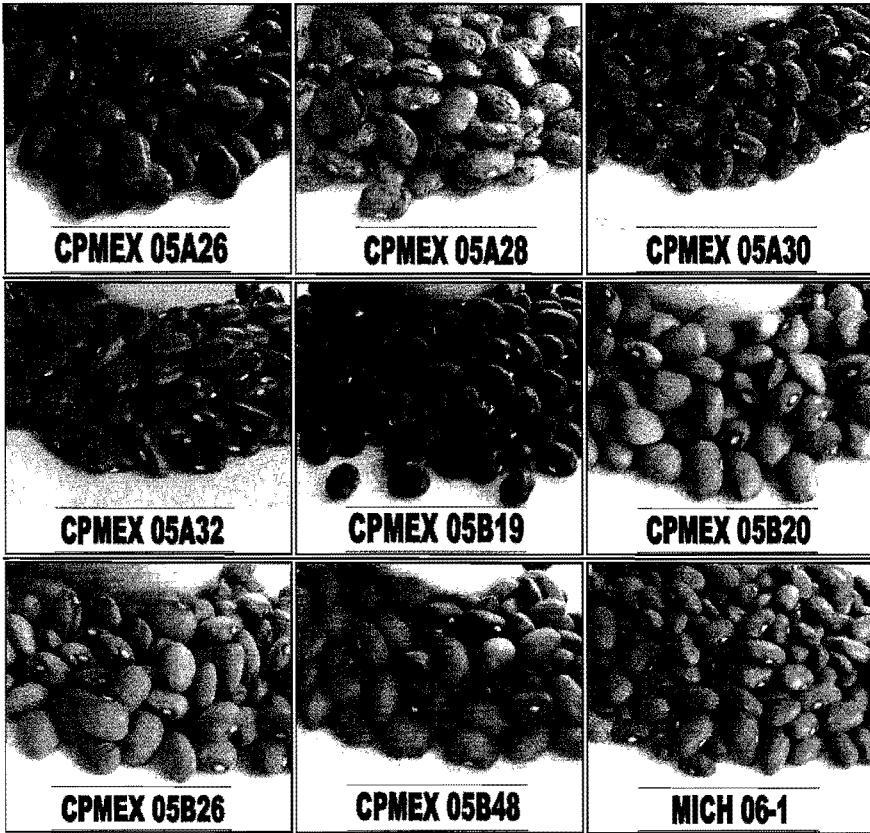
## Anexo 1:

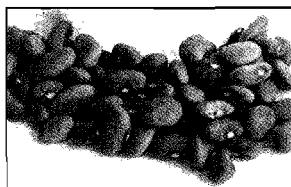
Fotografías de las 50 variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*)



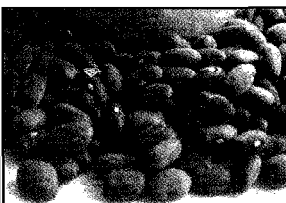








**MICH 06-2**



**MICH 06-3**



**OAX 05-1**



**OAX 05-3**



**MONTECILLO DE BORDO**

## Anexo 2

Acido Fítico, Método de Frunbeck (1995):

Preparación de columnas de intercambio iónico: Pesar aproximadamente 0.5 g de resina de intercambio aniónico e hidratarla con 0.6 mL de agua desionizada. Al mismo tiempo preparar las columnas utilizando jeringas de 3 mL e introduciéndole en el fondo de la misma un tapón de fibra de vidrio (cuidando de no poner en exceso) y colocarla sobre un soporte como puede ser una gradilla metálica. Agregarle a la columna la resina hidratada cuidando que quede asentada uniformemente. Una vez que la resina esté bien empacada en la columna adicionarle 15 mL de NaCl 0.7 N y posteriormente lavar con 30 mL de agua desionizada cuidando de dejar líquido suficiente (aproximadamente 0.5 cm de altura arriba de la resina empacada) para que no se seque la resina y quede lista para usarse.

Preparación de estándares: Preparar una solución concentrada de ácido fítico que contenga 1000 µg ácido fítico/mL. Pesar exactamente 0.080g de la sal de fitato de sodio, la cual tiene una pureza del 94% y una humedad del 8.3% y aforar con agua desionizada hasta un volumen de 50 mL.

A partir de la solución concentrada preparar las soluciones de los estándares de 5, 10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL de la siguiente manera:

**Tabla 6.** Preparación de estándares (Fruhbeck)

| mL solución concentrada<br>(1000µg ácido fítico/mL) | Aforar con agua desionizada hasta<br>(mL) | Concentración final<br>(µg ácido fítico/mL) |
|---|---|---|
| 0.125   | 25  | 5   |
| 0.250   | 25  | 10  |
| 0.500   | 25  | 20  |
| 0.750   | 25  | 30  |
| 1.000   | 25  | 40  |
| 1.250   | 25  | 50  |

Preparación del Reactivo de Wade: Pesar 0.03g de  $\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  y 0.3g ácido sulfosalicílico y disolverlos en agua desionizada hasta un volumen de 100 mL. El reactivo debe ser preparado en el momento de hacer la determinación espectrofotométrica, y una vez adicionado a las muestras debe leerse en menos de 30 minutos.