



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

México, D.F. 1979

**EVALUACION NUTRICIONAL DEL FRIJOL NEGRO
(Phaseolus vulgaris) EN FUNCION A SU PROCESO
DE COCCION**

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
TECNOLOGO DE ALIMENTOS

p r e s e n t a :

JOSEFINA VILLANUEVA MARIN

Asesor:

M en C Ing. Rubén Berra García-Coss



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

LAB Tesis 1979
DE M.T. ~~362~~ 362

REGHA _____

PROE _____

[Faint handwritten notes or stamps]



[Faint, mostly illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page]

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE
SEGUN EL TEMA.

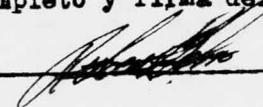
PRESIDENTE	NINFA GUERRERO DE CALLEJAS
V O C A L	RUBEN BERRA GARCIA-COSS
SECRETARIO	ZOILA NIETO
1er. SUPLENTE	SALVADOR BADUI DELGAL
2do. SUPLENTE	MIGUEL INFANTE HERNANDEZ

Sitio donde se desarrollo el tema: División de Estudios Superiores de la Facultad de Química.

Nombre completo y firma del sustentante: JOSEFINA VILLANUEVA MARIN



Nombre completo y firma del asesor del tema: RUBEN BERRA GARCIA-COSS



Esta tesis es parte de un estudio que se está realizando en la Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Alimentos de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se agradece la ayuda recibida de la Ing. -
Bioquímico Zoila Nieto, MVZ Aline S. de -
Aluja y PMVZ Eugenia Suárez.

El presente trabajo representa un compromiso no solamente científico sino también social, puesto que ningún estudio de esta naturaleza se puede justificar, si no está encaminado a intentar un beneficio para el hombre.

En este sentido el objetivo básico fué investigar el mayor aprovechamiento protéico de uno de los productos primordiales que compone nuestra dieta (Frijol negro); pues si bien es cierto que son muchos los elementos que conforman el subdesarrollo del pueblo mexicano, no menos cierto es que la desnutrición debido al bajo poder adquisitivo y a la falta de información, entre otras muchas causas, crean una cultura alimenticia poco rica y diversificada que produce índices bastante graves de retraso físico y mental en nuestra población.

I N D I C E

I	Introducción	1
II	Generalidades	4
III	Materiales y Métodos	18
IV	Resultados	23
V	Discusión	29
VI	Conclusiones	32
VII	Referencias	55

INTRODUCCION. -

El frijol negro (Phaseolus vulgaris) ha constituido desde tiempos remotos, una de las principales fuentes de proteína para el pueblo mexicano y en general para los pueblos de Latinoamérica (2,3,32,29).

Es sin embargo, para aquéllas personas de las clases más desprotegidas para quienes la proteína del frijol juega un papel importante dentro de su alimentación (30,17) de ahí la importancia que reviste tratar de aprovechar lo mejor posible ésta proteína.

Los diferentes procesos de elaboración a que son sometidos por las amas de casa, repercuten directamente sobre el valor nutricional de las semillas (29) ya que durante este proceso se suceden una serie de cambios tanto en la calidad de la proteína como en el contenido de las sustancias tóxicas que poseen (3,21,29,33,36).

Estas sustancias tóxicas causan serias lesiones en órganos como el páncreas (22), según estudios realizados, sin embargo aún no se han estudiado las posibles lesiones ocurridas en hígado y gónadas (3). El elevado índice de afecciones hepáticas en México (35) y el alto consumo de frijoles pudieran acaso, estar relacionadas.

Por supuesto que el origen de estas afecciones hepáticas

cas y lesiones encontradas en el páncreas, no solamente pueden estar causadas por la presencia de sustancias tóxicas o anti-nutricionales, sino también pueden ser debido a la escasa cali-dad y cantidad de las proteínas presentes en el frijol, o a la toxicidad producida por compuestos tóxicos sintéticos como los herbicidas (3).

Los objetivos del presente estudio son los siguientes:

- a) Hacer una evaluación nutricional del frijol negro (Phaseo-
lus vulgaris) cocinado a diferentes tiempos, utilizando el método de índice de eficiencia protéica (REP). Con el objeto de dar a conocer los posibles cambios en la calidad nu-
tricional de la proteína.
- b) Conocer las posibles alteraciones que se sucedan en el hígdo, páncreas y gónadas al ingerirse éstos frijoles, a tra-
vés de la variación en el peso de los órganos.
- c) Relacionar la variación en la calidad de la proteína debido a los diferentes tiempos de cocción del frijol, con los re-
sultados obtenidos en:
 - a) La observación histológica (realizada en el departamen-
to de Patología de la Facultad de Medicina, Veterinaria
y Zootécnia, como parte de la tesis profesional de la -
MVZ Ma. Eugenia Suárez Sitges).
 - b) Los pesos de los órganos

- e) Sugerir el tiempo de cocción adecuado para obtener los mayores beneficios desde el punto de vista nutricional, y de la destrucción de los factores tóxicos.

GENERALIDADES.-

Las leguminosas ocupan desde tiempos remotos un lugar importante dentro de la alimentación humana (2).

La aparición de las leguminosas como plantas cultivadas, se sitúa en el período Neolítico cuando aparece la agricultura, entre el noveno y quinto milenio A. C. (25).

En el viejo mundo se han encontrado indicios del cultivo del trigo y la cebada (4,500 A. C.) ocupando las leguminosas un puesto secundario pero importante (2). De igual manera se han hallado leguminosas en las tumbas egipcias de la época predinástica y en las ruinas de Troya (25).

En México se han encontrado testimonios de cultivos primitivos, como el del Complejo Ocampo de Tamaulipas (C-14, entre 3,700 y 2,630 años A. C.) donde se han hallado pruebas del cultivo de la calabaza y del frijol (Phaseolus vulgaris) (26).

Sud América ofrece también indicios de agricultura en la costa norte del Perú. Según el C-14 hace cerca de 2,500 años A. C. se cultivaba allí algodón, chile y frijol (26).

A través de los siglos el cultivo de las leguminosas se ha extendido por todo el mundo, predominando en Latinoamérica el cultivo del frijol negro (Phaseolus vulgaris) del cual han convenido en aceptar los investigadores que su origen se encuentra en México, donde se ha cultivado desde tiempos remotos (2,14,27,40).

El gran número de variedades cultivadas y los diversos nombres que los indígenas le dan, son pruebas de su antigüedad (2).

× El frijol (Phaseolus vulgaris) pertenece a la extensa familia Leguminosae, que comprende 13,000 especies, a la subclase Papilionoideae, denominada así por la forma de mariposa de sus flores, a la tribu Phaseoleas y a la especie vulgaris (2,28).

× El frijol es una planta anual, cuyo período de maduración vá de dos a cinco meses y su máxima producción se alcanza en climas frescos donde madura lentamente (2,28). Es precisamente en aquéllos países de la zona templada donde existe el menor índice de consumo de leguminosas y por lo tanto de frijol (2).

× A lo largo de toda la historia, las leguminosas se han considerado como un alimento de segunda clase, un alimento del pobre, ya que siempre ha resultado más barato un plato de leguminosas que uno de carne; de ahí que en los países desarrollados exista un mayor consumo de productos de origen animal que de origen vegetal y en los países subdesarrollados sea exactamente lo contrario (2,28). Entre los países subdesarrollados se encuentran los países latinoamericanos, donde el consumo de frijoles se efectúa por todas las clases sociales, en mayor o menor escala, la cual varía de 3 a 71 g. diarios por persona (cuadro # 1).

Encuestas realizadas en México, tanto en zonas rurales como urbanas revelan que el promedio de ingestión diaria de frijoles por persona es de 51 g. con una oscilación de 11 a 70 g.

CUADRO # 1

CONSUMO DE LEGUMINOSAS EN 34 PAISES

(cifras de las hojas de balance de alimentos de la FAO, 1960)

PAIS	CONSUMO (g)	PAIS	CONSUMO (g)	PAIS	CONSUMO (g)	PAIS	CONSUMO (g)
Alemania Rep. Fed.	3-7 g	Argentina	3-7 g	Estados Unidos	16 g	Paraguay	44 g
Suecia	3-7 g	Austria	3-7 g	Portugal	19 g	Perú	45 g
Nueva Zelanda	3-7 g	Australia	3-7 g	Chile	22 g	Venezuela	50 g
Uruguay	3-7 g	Canadá	8-13 g	Rep. Arabe Unida	26 g	Japón	" 50 g
Bélgica	3-7 g	Dinamarca	8-13 g	Turquía	27 g	México	51 g
Finlandia	3-7 g	Francia	8-13 g	Grecia	29 g	Costa Rica	63 g
Suiza	3-7 g	Reino Unido	8-13 g	Ecuador	36 g	Brasil	68 g
Irlanda	3-7 g	Sudáfrica	8-13 g	Honduras	36 g	India	71 g
Paises Bajos	3-7 g	Italia	16 g	Panamá	36 g		
		Israel	16 g				
Noruega	3-7 g	Ceilán	16 g	Colombia	36 g		

" comprende una estimación del contenido de soya

Referencia : (2)

según las hojas de balance de la FAO de 1960 (2), sin embargo, son notables las semejanzas entre los datos obtenidos en el período de 1958-1962 y 1963-1974 lo que indica que la dieta y la salud del mexicano no ha variado y que los resultados del primer período, están vigentes todavía (5).

* Es precisamente dentro de las familias de escasos recursos donde el consumo de leguminosas se eleva considerablemente, representando para ellos su única fuente de proteínas, ya que su alimentación se basa en el maíz y el frijol (7) y en ocasiones - arróz, el cual junto con el maíz los provee principalmente de - carbohidratos (2,5,7).

* Conforme aumentan los ingresos familiares, el consumo de frijoles no solo disminuye, sino que su dieta se hace más variada introduciendo en ella productos de origen animal tales como - la leche, la carne y los huevos, los cuales vienen a elevar el - valor biológico de la proteína del frijol (2,5).

② * La proteína del frijol, tiene un valor biológico relativamente bajo (cuadro # 2), este bajo valor se debe a su escaso - contenido de algunos aminoácidos esenciales, como lo son los - - azufrados (2).

* Cuando una proteína se halla limitada por el aminoácido esencial que se encuentra en cantidad mínima, su valor biológico decrece considerablemente como ocurre en el caso de la proteína del frijol (2), la cual está constituida por la fracción globulí

* CUADRO # 2

Valores biológicos relativos correspondientes a las proteínas de las leguminosas en relación a otros alimentos

(los valores biológicos se dan en una escala porcentual):

Proteína ideal	100
Huevos	96
Carne (músculo)... ..	80
Soya	75
Arroz	70
Maíz	55
Leguminosas en general	40-50

Referencia: (2)

nica que constituye el 75% de la proteína total del frijol negro (Phaseolus vulgaris). La fracción globulínica está formada por 4 componentes principales: alfa, beta, gama y delta, representando respectivamente al 50, 19, 10 y 12% (16).

✕ La alfa globulina es una glicoproteína que contiene 4.95% de carbohidrato (como manosa), 1.19% de hexosamina (como glucosamina) y es deficiente en los aminoácidos que contienen azufre, -- como son la metionina y cisteína (16), por otra parte las citadas proteínas poseen un elevado contenido de lisina de la que los cereales son ligeramente deficitarios, de ahí que al consumirse -- maíz y frijol juntos se lleve a cabo una suplementación elevándose un poco el valor biológico en la mezcla, debido a que la lisina de las leguminosas, compensa la deficiencia del cereal y estos a su vez, compensan con la metionina la deficiencia de las leguminosas (2).

6 ✕ El frijol además de proveer a las clases más necesitadas de proteína, también les proporciona una fuente considerable de calorías por su elevado contenido de carbohidratos, aunado a las vitaminas y minerales (Cuadro # 3) (2).

7 ✕ Como otras leguminosas, el frijol negro no solo contiene proteínas y carbohidratos en abundancia, sino que también contiene una serie de sustancias tóxicas o antinutricionales, como son: el inhibidor de la tripsina, las hemaglutininas, las saponinas, el factor bociogénico, los glucósidos cianogénicos y los alcaloides (21,22,32,33,36,37).

7 * La mayoría de estos factores tóxicos o antinutricionales pueden ser parcial o totalmente eliminados por métodos apropiados de cocción, mejorando notablemente su calidad nutricional - (2,18,21,29,46).

La presencia de sustancias tóxicas, en el grano de frijol, resulta muy perjudicial para el aprovechamiento de sus proteínas, ya que el frijol es deficiente en el contenido de aminoácidos azufrados y cualquier interferencia en la digestibilidad de las proteínas, sirve para acentuar esta deficiencia. Los factores tóxicos contribuyen a empobrecer la digestibilidad de las proteínas del frijol, inhibiendo la actividad proteolítica de las enzimas digestivas, evitando que las proteínas se descompongan en sus aminoácidos, e impidiendo sean absorbidos por el intestino (12,22), de ahí la importancia de eliminar por medio de una cocción adecuada la mayoría de los factores tóxicos que interfieren directamente en el aprovechamiento de la proteína.

* Existen otros factores que pueden alterar el valor nutricional de la proteína como son: la variedad del frijol (3), el tipo de suelo donde se cosecha (3), condiciones y tiempo de almacenamiento (29), germinación (33), etc. Se ha observado, que el valor del REP (índice de eficiencia proteica) decrece conforme aumenta el tiempo de almacenamiento (29), asimismo se ha visto que la germinación repercute desfavorablemente sobre los valores del REP, posiblemente debido a la disminución de la cantidad de aminoácidos azufrados que contiene la semilla, o a la presencia

CUADRO # 3

Calorías y elementos nutritivos determinados de las leguminosas y otros alimentos.
(las cifras se refieren a la parte comestible)

Alimentos	Agua %	Cal por 100 g	Proteí- nas %	Grasas %	Carbo- hidra- tos %	Calcio mg/ 100 g	Hierro mg/ 100 g	Tiami- na mg/ 100 g	Ribo- flavi- na mg/ 100 g	Acido nico- tini- co mg/ 100 g
Arroz blanco elaborado	13	360	6.7	0.7	78.9	10	0.9	0.08	0.03	1.6
Trigo de bajo coefi- ciente de extracción	12	370	10.9	1.1	75.5	16	1.0	0.13	0.04	1.1
Maíz, coeficiente de extracción 90-96 %	12	360	9.3	4.4	73.5	6	1.8	0.35	0.09	1.3
Frijol común (Phaseo- lus vulgaris)	11	341	22.1	1.7	61.4	137	6.7	0.54	0.18	2.1
Lenteja (Lens escu- lenta)	11	346	24.2	1.8	60.8	56	6.1	0.50	0.21	1.8
Carne de vaca, magra	67	198	19.0	13.0	0.0	11	2.3	0.07	0.17	4.0
Pescado blanco, de nar	82	75	16.4	0.5	0.0	25	0.7	0.05	0.08	2.2
Huevos, de gallina	74	163	12.4	11.7	0.9	50	2.5	0.10	0.30	0.1
Leche desnatada en polvo	4	360	36.0	1.0	51.0	1235	0.9	0.35	1.80	1.0

Referencia: (2)

de sustancias tóxicas resistentes al calor (33).

Otro factor muy importante es la temperatura, ya que un excesivo calentamiento repercute negativamente sobre la calidad biológica de la proteína del frijol, debido a un cambio en su estructura y a la destrucción de sus componentes, teniendo como consecuencia la disminución de los valores del REP (15,18,29,31 34). Estudios anteriores han demostrado que un cocinado durante 30 minutos en autoclave elimina en su mayoría a los factores tóxicos presentes, sin alterar considerablemente la calidad de la proteína, pero si el calentamiento excede de 30 minutos, la calidad de la proteína se ve afectada, mientras que a los 10 minutos se obtiene el REP más elevado (9,18,19,29). Por otra parte a los 10 y 30 minutos de cocción, los frijoles no son aún aceptables desde el punto de vista organoléptico, ya que su textura no es la adecuada para ingerirlos, debido a que este rango de aceptación se encuentra entre los 40 y 60 minutos (3).

Durante el proceso casero de elaboración de los frijoles, es necesario utilizar tiempos de cocción mayores de 30 minutos, a fin de obtener una textura adecuada para ser ingeridos, pero al mismo tiempo este excesivo calentamiento repercute desfavorablemente sobre el valor nutricional de las semillas. Estudios de electroforésis muestran que a medida que aumenta el tiempo de cocción, la fracción globulínica se va descomponiendo, (principalmente las fracciones β y γ) en compuestos más pequeños, observándose una relación directa entre el patrón electroforético y -

el cambio ocurrido en el valor biológico de la proteína del frijol cocinado a diferentes tiempos, debido probablemente a la formación de esos nuevos compuestos aún no identificados. (3).

Un método eficaz para evaluar el deterioro que sufren las proteínas al someterse a diferentes tiempos de cocción es el REP, que nos da el índice de eficiencia proteica, dicho índice puede verse afectado, no solo por la calidad de la proteína, sino también por la baja digestibilidad debida a la presencia de factores tóxicos o antinutricionales (13).

Se ha observado que invariablemente, una reducción en la digestibilidad, va acompañada de un aumento del tamaño del páncreas (22) pudiendo ser ésta también la causa de posibles lesiones hepáticas.

Siendo el hígado, el órgano metabólico más importante, no es extraño que éste sea muy susceptible en las enfermedades y lesiones producidas por una sub-alimentación crónica, no hay que olvidar que el consumo proteico del hígado, es el más grande después de la musculatura (20). Existen numerosos ensayos en animales que demuestran experimentalmente, la gravedad de las lesiones hepáticas con frecuencia irreversibles que se producen por la sub-alimentación, pero principalmente por la carencia proteica (20).

Se ha estimado que la frecuencia de hepatitis se eleva en el caso de los subalimentados. Kalk y Berning, han encontrado

lesiones hepáticas tardías en los distróficos y una mayor frecuencia de cirrosis hepática en los prisioneros subalimentados, que fueron repatriados después de la Segunda Guerra Mundial; en estos casos el hígado estaba algo aumentado, pero no mostraba alteraciones funcionales, se vió que se trataba de una degeneración adiposa hepática, de cualquier forma la hepatitis no participó como causa primaria. La cirrosis se interpreta por analogía, con las experiencias de Himsworth, como la consecuencia del engrosamiento hepático de origen carencial alimenticio (20).

La carencia protídica excesiva y durante mucho tiempo es necesaria para que aparezcan las lesiones hepáticas. La frecuencia de cirrosis hepática infantil del tipo Laennes, en las Indias Occidentales y en los países tropicales nos habla en favor de la importancia etiológica de la carencia protéica (20).

En México, también se han encontrado casos de cirrosis hepática infantil, aunque son pocos comparados con la cantidad tan grande de defunciones en adultos debido a esta causa. La cirrosis hepática se encuentra dentro de las 10 principales causas de mortalidad en la población total de la República Mexicana, siendo más frecuente en el hombre adulto de 45 a 64 años (cuadro # 4) (35).

El aumento del tamaño del páncreas, podría no estar causado por la carencia protéica, sino por el factor inhibidor de tripsina, el cual actúa directamente sobre el páncreas, haciendo

CUADRO # 4

Diez Principales Causas de Mortalidad en la
República Mexicana

Causas	Defunciones	Por ciento del total	Mortalidad por 100 000 personas
Influenza y neumonía	70 200	15.32	138.11
Enteritis y otras <u>en</u> enfermedades diarréicas	64 302	14.03	126.51
Enfermedades del <u>cora</u> zón e hipertensivas	31 542	6.88	62.05
Ciertas causas de la mortalidad perinatal	24 758	5.40	48.71
Accidentes	22 000	4.80	43.28
Tumores malignos	18 389	4.01	36.18
Enfermedades <u>cerebro</u> vasculares	12 621	2.75	24.83
Cirrosis hepática	10 704	2.34	21.06
Infecciones <u>respira</u> torias agudas	9 256	2.02	18.21
Tuberculosis todas formas	9 076	1.98	17.86
Las demás	185 475	40.47	364.90

Referencia : (35)

que secrete una excesiva cantidad de enzima digestiva, teniendo como consecuencia la hipertrofia pancreática (12). Las fitohemaglutininas ejercen un papel no selectivo en la absorción de los nutrientes por el tracto digestivo y no un efecto directo sobre el proceso digestivo; es importante hacer notar, que la eliminación de las fitohemaglutininas en la dieta de ratas de experimentación, no redujo la hipertrofia del páncreas (22).

Stewart y Col observaron en 12 generaciones de ratas el efecto de una dieta deficiente en proteínas, encontraron un retraso en el crecimiento y la madurez sexual, especialmente en hembras, y al llegar a la edad adulta tanto en hembras como en machos, los órganos sexuales eran más pequeños y pesaban menos. Sin embargo, cuando los testículos se expresaron en porcentaje de peso corporal, éstos eran más pesados que los de los animales problema. Las ratas nacidas de madres desnutridas tuvieron un crecimiento muy lento y presentaron también un retraso notorio en la madurez sexual, escasa producción láctea y aumento en la mortalidad de sus crías antes del destete; el hígado y gónadas estaban severamente afectados. El peso corporal pareció ser más importante que el tamaño, en la aparición de la pubertad (39).

Se ha reportado en el humano alimentado con una dieta carente de proteína, que en el testículo, se producen alteraciones en la espermatogénesis. Stefko ha encontrado en niños, cohibición formativa de las células germinales y atrofia en los canalículos seminales. En ovarios se ha encontrado atrofia folicular e hipo-

desarrollo genital en niñas (20).

Estudios en mamíferos y aves de corral han relacionado el papel de la espermatogénesis con el desarrollo testicular y el alcance de la madurez sexual (6,10).

MATERIALES Y METODOS.-

Con el fin de evaluar, por el método de índice de eficiencia protéica (REP) la calidad nutricional del frijol negro (Phaseolus vulgaris), cocinado a diferentes tiempos, se alimentaron ratas Wistar, a las cuales se les practicó posteriormente la necropsia, con el objeto de observar las posibles alteraciones en hígado, páncreas y gónadas.

Con tal motivo se llevaron a cabo las siguientes etapas:

Elaboración de la dieta.-

Para este estudio se utilizó frijol negro "Querétaro", que es una mezcla de diferentes variedades del frijol Phaseolus vulgaris, cosechados en la región central de la República Mexicana, por ser éste el de mayor consumo en el país. Las muestras fueron adquiridas en tiendas de autoservicio y mezcladas entre sí.

Se formaron cinco lotes con las semillas y se cocinaron con agua potable, a razón de 280 ml. por cada 100 g de muestra, en autoclave a 15 lbs. de presión y durante 10, 30, 50, 60 y 80 minutos.

Posteriormente se pasó el caldo y los granos de cada lote a charolas y fueron llevadas a la estufa para secarse a 40°C y con vacío. Cada lote fué molido en un molino para granos marca CeCoCo, obteniéndose un polvo fino al cual se le determinó el porcentaje de proteínas, siguiendo el método de Kjeldahl descrito --

por la AOAC (1), con el objeto de poder balancear cada una de las dietas al 10% de proteínas. Todas las dietas se suplementaron de la siguiente manera:

Frijoles	10% de proteína
mezcla de vitaminas *	1%
mezcla de minerales *	4%
aceite de maíz	5%
Azúcar refinada	10%
almidón de tapioca	hasta completar 100%

* Vitamin Fortification Mix. Cat No. 40060 Formerly General Bioquimicals (g.b.i.) Tektad Test Diets # 2826 Lanthan Drive Madison Wisconsin 53713.

* Mineral Mix, Rogus8Harter Powdes. Srague8Dawley Division of the Mogul Corporation: Madison Wn. 53713.

Se preparó una dieta con caseína al 10% como referencia, suplementándose de la misma forma que las dietas de frijol, de igual manera se elaboró otra dieta, con caseína al 5%, con el objeto de tener un parámetro de comparación bajo en proteínas.

Todas las dietas permanecieron en una cámara fría (10°C) durante todo el experimento.

Métodos biológicos.-

El índice de eficiencia protéica (REP), se determinó utilizando ratas Wistar obtenidas de la colonia del bioterio de la

Facultad de Química de la UNAM, recién destetadas de 21 a 23 días de nacidas y con un peso inicial de 35 a 40 gramos.

Se trabajó con siete grupos de 10 ratas cada uno, integrado por cinco hembras y cinco machos quedando distribuidos de la siguiente manera:

grupo C ₁₀	con caseína al 10% como fuente de proteína.
grupo C ₅	con caseína al 5% como fuente de proteína.
grupo 10'	con 10% de proteína de frijol a 10' de cocción.
grupo 30'	con 10% de proteína de frijol a 30' de cocción.
grupo 50'	con 10% de proteína de frijol a 50' de cocción.
grupo 60'	con 10% de proteína de frijol a 60' de cocción.
grupo 80'	con 10% de proteína de frijol a 80' de cocción.

Los animales fueron colocados individualmente en jaulas donde se les proporcionó la dieta y agua ad libitum.

El experimento duró 28 días, registrándose semanalmente el consumo de alimento y el peso de cada una de las ratas. Se controló la temperatura entre 22 y 25°C, la humedad al 60% y la luz (se usó luz eléctrica por el día apagándose por las noches).

Con el objeto de determinar las posibles alteraciones en hígado, páncreas y gónadas, el experimento se continuó hasta los 65 días, bajo las mismas condiciones, a fin de permitir que las ratas llegaran a edad adulta.

Seis ratas de cada lote, tres hembras y tres machos fueron sacrificadas con guillotina, posteriormente, el hígado, páncreas y gónadas fueron extraídos. Cada órgano fué pesado inmediatamente en una balanza analítica. Páncreas, gónadas y parte del hígado fueron fijados en una solución buffer de formalina (100 ml. de formol al 37-40%, 4 g. de fosfato monobásico de sodio, 6.5 g. de fosfato dibásico de sodio y 900 ml. de agua destilada). La otra parte del hígado fué fijada en alcohol etílico absoluto. Las cuatro ratas restantes fueron enviadas al Dr. V. Tsutsumi del Registro Nacional de Anatomía Patológica de la S.S.A., para ser estudiado el hígado a nivel de microscopía electrónica. Estos resultados serán publicados separadamente.

Estudio Histológico.-

Después de ser cortados y encapsulados los órganos, se metieron al Histokinette (marca Hendrey Relays LTD, path Road Slough Bucks) con el fin de deshidratar los tejidos y embeberlos en parafina. Posteriormente fueron cortados con el microtomo de Spencer a 5-7 micras.

Los cortes de hígado, fueron teñidos con carmín de Best (23), con el objeto de poder observar el glucógeno; para des

cartar una posible falla técnica, también fueron teñidos como los órganos fijados en formol, con Hematoxilina-Eosina se fijaron, se montaron y se observaron al microscópio óptico.

Cálculos.-

Determinación del índice de eficiencia protéica:

$$\text{REP} = \frac{\text{Peso ganado por el animal}}{\text{proteína ingerida}}$$

Proteína ingerida = total de comida ingerida x % de
proteína en la mezcla x 0.01

$$\% \text{ en peso del órgano} = \frac{\text{Peso del órgano} \times 100}{\text{peso final del animal}}$$

Corrección del REP con caseína 2.5 (con el objeto de que los resultados sean comparables con los reportados en la literatura).

$$\text{Corrección del REP con caseína 2.5} = \frac{\text{caseína 2.5} \times \text{REP obtenido}}{\text{REP obtenido para caseína}}$$

Los estudios histológicos, fueron realizados por la PMVZ María Eugenia Suárez Sitges (tesis profesional 1978) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

RESULTADOS.-

Los resultados obtenidos en la evaluación nutricional del frijol negro (Phaseolus vulgaris) cocinado a diferentes tiempos mostraron, un decremento en los valores del REP conforme al tiempo de cocción aumentó, sin embargo a los 50 minutos, que es cuando se registraron los menores valores del REP, tanto para hembras como para machos, empezó este a recuperarse, llegando en el caso de las ratas macho a adquirir un valor semejante al REP de 20 minutos, y en las hembras un poco menor al REP de 30 minutos, no llegando en ninguno de los casos, a igualar al REP inicial (gráfica # 1).

Se obtuvieron valores del REP similares tanto para ratas hembras como para machos, alimentadas con caseína al 5% y 10%.

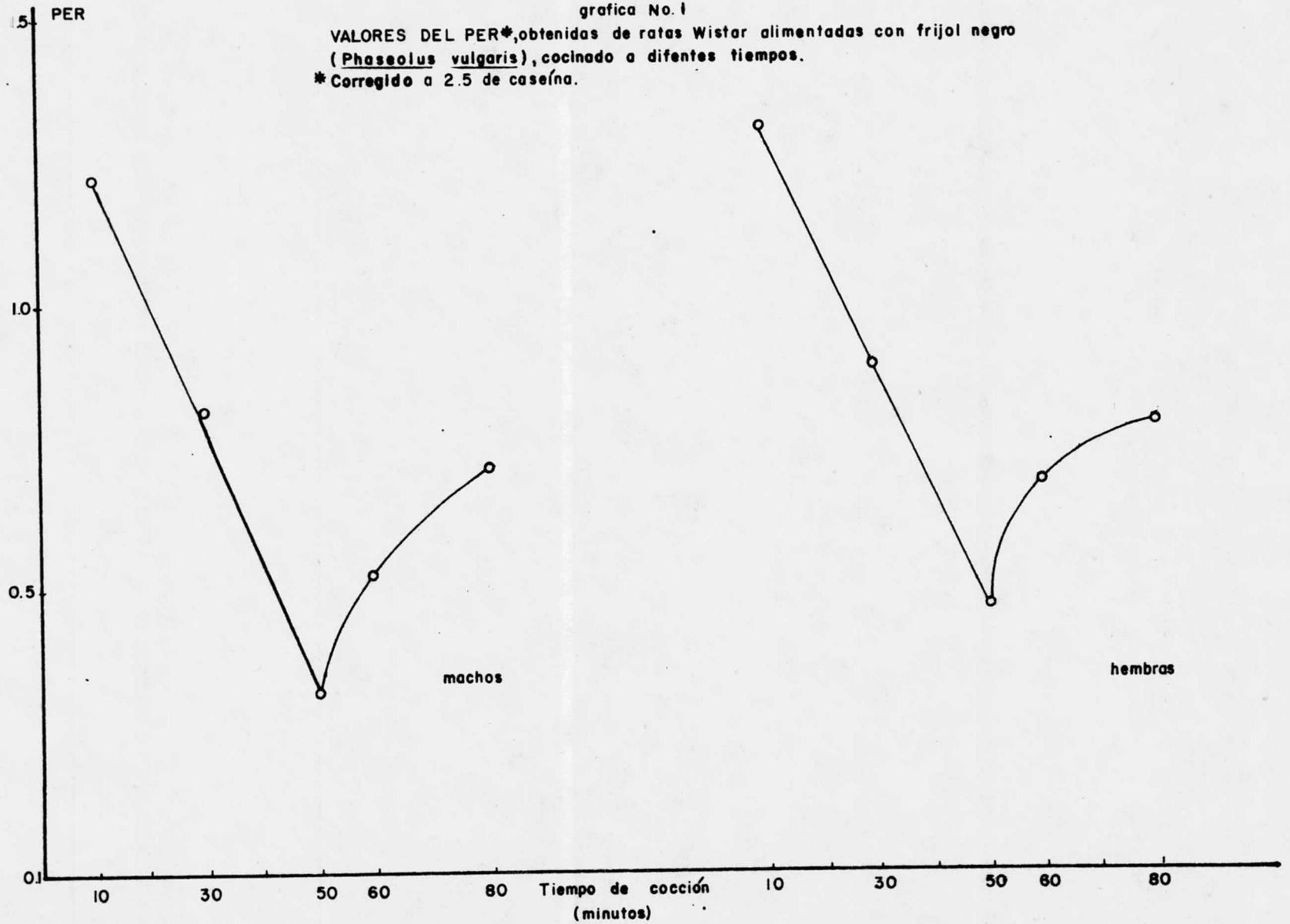
Al relacionar los valores del REP, con los pesos de los órganos, se pudo ver que existe una correlación entre ambos parámetros (gráfica # 2).

Los mayores pesos del hígado, tanto en machos como en hembras, se encontraron en las ratas alimentadas con frijoles cocinados durante 10, 30 y 50 minutos, que es cuando el REP descendió drásticamente, sin embargo al recuperarse éste, entre los 50 y 80 minutos, se observó que los pesos del hígado disminuyeron.

Los pesos de las gónadas, variaron directamente con respecto a los valores del REP, encontrándose los menores pesos de

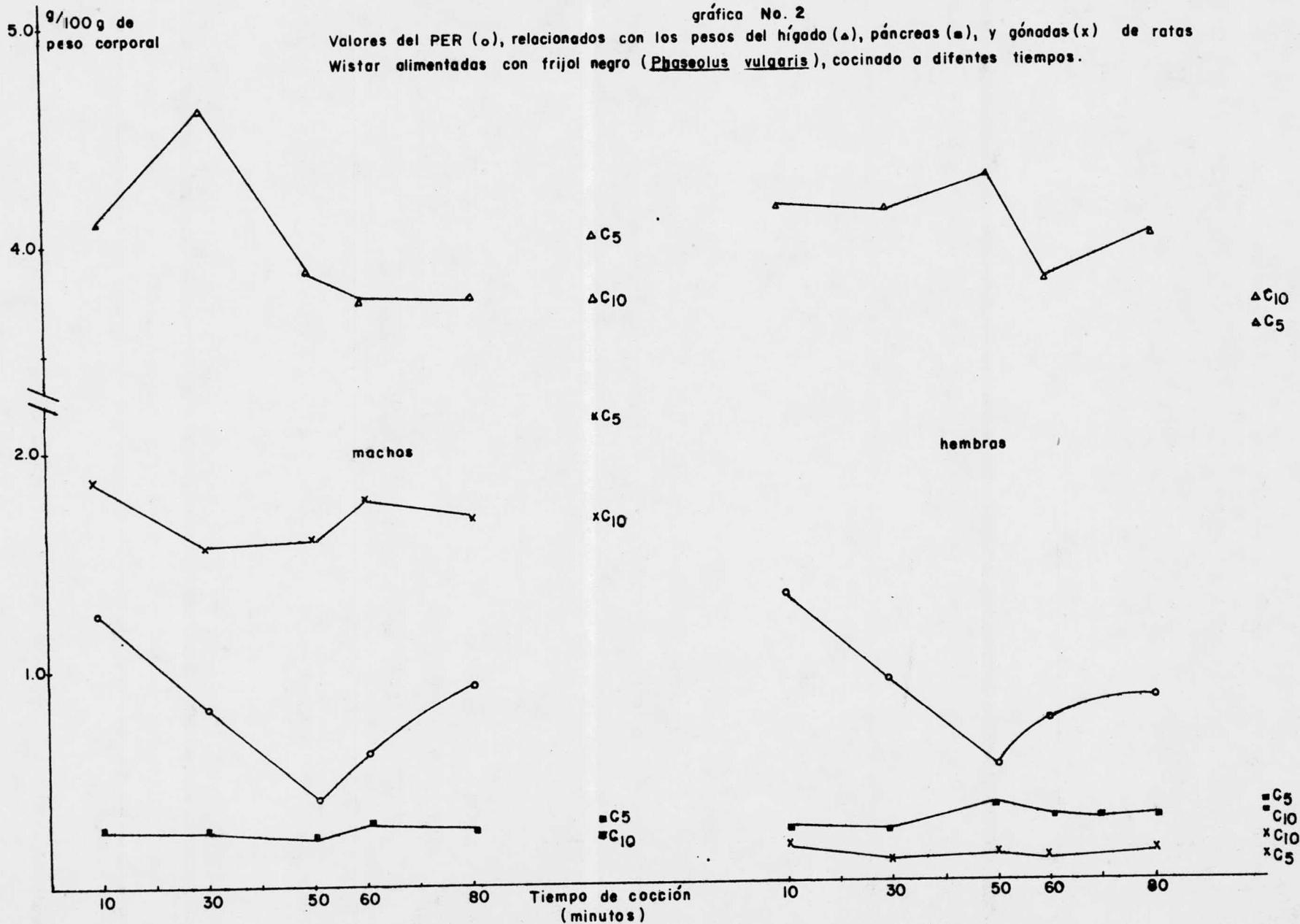
grafica No. 1

VALORES DEL PER*, obtenidas de ratas Wistar alimentadas con frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), cocinado a diferentes tiempos.
* Corregido a 2.5 de caseína.



gráfica No. 2

Valores del PER (o), relacionados con los pesos del hígado (Δ), páncreas (■), y gónadas (x) de ratas Wistar alimentadas con frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), cocinado a diferentes tiempos.



ovarios y testículos a los 30 y 50 minutos y un aumento de tamaño a los 60 minutos (figura # 1).

En cuanto al páncreas se observó que a medida que aumentó su peso, los valores del REP disminuyeron y de nuevo se vió una mejoría a los 60 y 80 minutos, siendo esto más evidente para hembras que para machos (gráfica # 2).

Las ratas de todos los grupos problema, incluyendo C_5 , manifestaron un peso corporal inferior al ser comparadas con C_{10} . Los resultados se encuentran resumidos en los apéndices 1, 2 y 3.

En los cortes histológicos de testículo se observa en general en todos los grupos experimentales, incluyendo C_5 , un retardo en la espermatogénesis, comparándolos con el grupo testigo (C_{10}). Este retardo se caracteriza por disminución o ausencia de espermatozoides pudiéndose notar variaciones de este tipo de acuerdo al tiempo de cocción. A partir de 50 minutos de cocción, la cantidad de espermatozoides es nula, asimismo la cantidad de células inmaduras aumenta conforme el tiempo de cocción desde los 10 hasta 60 minutos; a partir de los cuales se pudo observar una disminución de células inmaduras. Estos resultados están resumidos en el apéndice 4.

Los ovarios de los animales que habían ingerido las dietas C_5 , C_{10} y frijol cocinado durante 10 minutos habían alcanzado la madurez sexual, ya que en todos se encontró uno o varios cuerpos lúteos. En ninguno de los ovarios de los animales alimentados

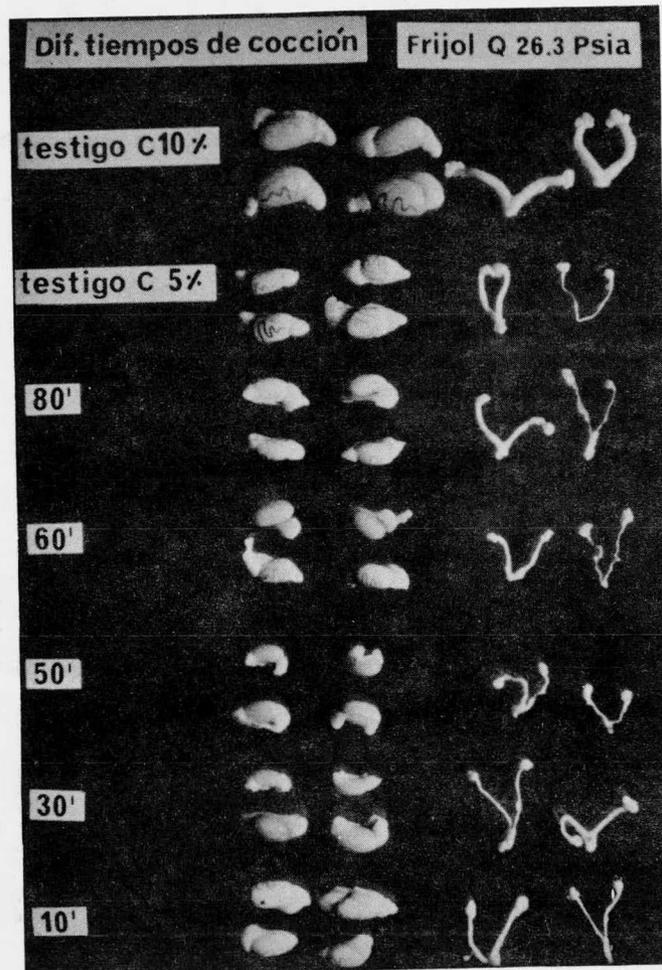


Fig. 1 Testículos y ovarios de ratas alimentadas con frijol negro "Querétaro" cocinado a 121°C y 15 lbs. de presión (26.3 --- Psia) durante diferentes tiempos.

Se nota claramente que el tamaño de las gónadas disminuye conforme el tiempo de cocción aumenta hasta llegar a los 50 minutos, tiempo a partir del cual, se observa una recuperación.

con la dieta de 50 y 60 minutos, se encontró cuerpo lúteo. En los grupos de 30 y 80 minutos los hallazgos fueron variables.

Los resultados se encuentran resumidos en el apéndice 5.

El hígado presentó en todos los grupos experimentales, incluyendo C₅, un cambio peculiar en las células hepáticas, caracterizado por la presencia de grandes espacios sin estructura dentro de los cuales se encuentra flotando un núcleo, o también pueden observarse células completamente vacías. Coloraciones con Carmín Best y con Sudán (3) revelaron que éstas vacuolas no son debidas a excesivas cantidades de glucógeno ni grasa.

No fué posible establecer una diferencia del grado de éste cambio en relación a los grupos experimentales ya que todos los hígados lo presentaron, como también C₅. En el grupo testigo C₁₀, no se encontró la forma vacuolar de los hepatocitos.

Los resultados se encuentran resumidos en el apéndice 6.

DISCUSION.-

Los resultados de la evaluación nutricional, muestran un decremento en los valores del REP con el aumento en el tiempo de cocción, coincidiendo esto con lo ya publicado por otros autores, sin embargo, la elevación del REP después de los 50 minutos no había sido reportada.

El descenso en los valores del REP, con respecto a los -- tiempos de cocción, puede deberse al deterioro que sufren los componentes de las proteínas con el calentamiento, al mismo tiempo - que las sustancias tóxicas presentes en los frijoles, se van eliminando.

A los 50 minutos de cocción, las proteínas sufren su máxi- ma afección, siendo entonces cuando se obtiene el mínimo valor del REP, pudiendo esto estar causado por el excesivo calentamiento, - el cual provoca la desnaturalización de las proteínas (perdiendo - su estructura terciaria y cuaternaria). Al mismo tiempo es proba- ble que las proteínas ya "abiertas" liberen sustancias tóxicas en globadas en ellas (3) y como consecuencia haya una mejor asimila- ción de sus componentes, coincidiendo con un ascenso en los valo- res del REP, aunque éste no llegue a recuperarse totalmente debido a los cambios sufridos en los componentes de las proteínas.

Las ratas alimentadas con caseína al 5%, obtuvieron un REP similar al de las ratas testigo alimentadas con 10% de caseína, de bido probablemente no al mejor aprovechamiento de la escasa proteí

na, sino a la presencia de una hipertrofia hepática, con la cual la relación aumento en peso corporal/proteína ingerida (REP) resultó similar para ambos casos.

Los resultados obtenidos en relación con los valores del REP y los pesos de los órganos muestran en el caso del hígado un aumento de tamaño de éste conforme disminuye el REP pudiendo ser ésto debido a una hipertrófia producida por la presencia de algún factor tóxico que interfiera con la actividad específica de las enzimas hepáticas (8,22) o a una deficiencia protéica (principalmente de aminoácidos sulfurados) que provoca un decremento en la actividad enzimática, ésto se podría explicar, en base a que aumenta al catabolismo tisular y disminuye la síntesis protéica o a la inactivación de la enzima protéica existente (8,20).

En lo que al páncreas se refiere, los resultados muestran, que el valor del REP decrece conforme el peso del páncreas aumenta, lo cual está de acuerdo con lo ya reportado en la literatura (12,22). Esta hipertrófia se podría atribuir a la presencia del inhibidor de tripsina, ocasionando una baja utilización de las proteínas, lo cual repercute sobre el funcionamiento del páncreas, produciendo una excesiva secreción de enzima pancreática, por lo que aumenta su tamaño (12).

Los pesos de las gónadas varían de acuerdo al REP, observándose los menores pesos en los tiempos críticos del mismo (50 min.). Estos resultados coinciden con los obtenidos en los estudios histológicos, en los cuales en machos hay un retraso en la es

permatogénesis,, la cantidad de espermatozoides a partir de 50 y 60 minutos es nula y las células inmaduras aumentan. En el caso de las hembras, a los 50 y 60 minutos no había cuerpo lúteo, siendo - ésto un signo de que no se había presentado aún la ovulación; tanto en machos, como en hembras a los 80 minutos la cantidad de signos de inmadurez sexual fué menor coincidiendo con la elevación de los valores del REP.

Los resultados histológicos del hígado no siguen el mismo patrón que las gónadas, ya que se observa el mismo grado de alteración en todos los grupos, incluyendo al grupo C₅, sólo el grupo control no mostraba alteraciones, lo cual nos lleva a pensar que. éstas alteraciones hepáticas como en el caso de la subalimentación son causadas por carencia protéica; ya que la cistina y metionina presentan funciones antitóxicas (20) y el frijol es deficiente en ellos pudiera ésto favorecer la acción perjudicial de los factores tóxicos en el parénquima hepático.

Los cortes teñidos con Carmín de Best, muestran que las vacuolas observadas en el citoplasma no son debidas a glucógeno. La posibilidad de que éstas vacuolas sean debidas a grasa es deshecha ya que las lesiones producidas por éstas son muy diferentes (3).

Con el objeto de determinar las causas de éstas lesiones, estudios al microscópio electrónico se estan llevando a cabo y serán motivo de otra comunicación.

CONCLUSIONES.-

El REP disminuye conforme el tiempo de cocción aumenta, en contrándose su valor mínimo a los 50 minutos de cocción, después - del cual se observa una recuperación sin llegar a igualar el REP - inicial; al mismo tiempo el mayor retraso en la maduréz sexual se presenta después de los 50 minutos, coincidiendo con el REP, en un menor retraso en la aparición de la pubertad de los grupos de 60 y 80 minutos.

Lo anterior nos lleva a pensar, que el efecto de una dieta a base de frijoles, como única fuente de proteína, ejerce un efecto retrasante en la actividad gonadal. Tendrá que establecerse por medio de estudios posteriores, realizados en un período de tiempo mayor, si realmente se trata de un retraso en la maduréz sexual o de la inactivación de las gónadas.

El hígado presenta el mismo grado de alteraciones en todos los grupos problema, que hasta ahora son difíciles de evaluar. Se espera que el resultado de los estudios al Microscópio Electrónico aclaren la duda en cuanto al origen fisiológico de éstas lesiones.

En vista de que el grupo C₅ presenta el mismo retraso en la aparición de la pubertad e igual grado de alteraciones hepáticas, nos hace pensar que el origen de éstas modificaciones es debida a la escasa cantidad de proteína, mientras que en los grupos problema la causa pudiera ser el bajo aprovechamiento de la proteíí

na debido a la presencia de un factor tóxico que interfiere en la digestibilidad, como es el caso del factor inhibidor de tripsina, o a la presencia de otros factores tóxicos que actúan lesionando directamente al hígado, o bien a la escasa cantidad de aminoácidos sulfurados, debida a la calidad de la proteína.

El REP no es un método apropiado para evaluar la calidad de una proteína, debido a que el alimento en estudio puede producir una hipertrófia en el animal y alterar éste valor final.

De acuerdo a los resultados obtenidos, podría sugerirse que los tiempos óptimos de cocción de el frijol, para consumo, son de 60 a 80 minutos, ya que en éstos tiempos se obtienen los mejores valores del REP, y es aquí cuando los órganos parecen tener un grado de afección menor, dentro del rango de aceptación organoléptico.

APENDICE 1

PROMEDIO DEL PORCIENTO EN PESO DE LOS ORGANOS

Identificación	% peso hígado		% peso páncreas		% peso gónadas	
	machos	hembras	machos	hembras	machos	hembras
C ₁₀	3.70	3.74	0.20	0.29	1.69	0.24
C ₅	4.00	3.67	0.27	0.34	2.14	0.14
10'	4.07	4.18	0.28	0.24	1.86	0.16
30'	4.62	4.15	0.28	0.24	1.57	0.09
50'	3.86	4.33	0.23	0.34	1.69	0.12
60'	3.72	3.84	0.29	0.30	1.78	0.10
80'	3.72	4.05	0.26	0.30	1.70	0.12

APENDICE 2

PROMEDIO Y CORRECCION A 2.5 DE CASEINA DE LOS VALORES DEL PER

Identificación	promedio de los valores del PER		Corrección a 2.5 de caseína		$\bar{X} = \pm$	
	machos	hembras	machos	hembras	machos	hembras
C ₁₀	2.675	2.532	—	—	0.632	0.402
C ₅	2.747	2.678	—	—	1.410	0.824
10'	1.394	1.439	1.302	1.420	0.346	0.743
30'	0.976	1.072	0.912	1.058	1.054	0.332
50'	0.457	0.588	0.427	0.580	0.539	0.396
60'	0.677	0.793	0.632	0.782	0.479	0.510
80'	0.879	0.919	0.821	0.907	0.613	0.685

APENDICE 3

Identificación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso Inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
10'-1:	0 18.24	22.0	52.0	74.0	108.0	4.3475	0.2039	1.3073	1.206
10'-2:	0 17.37	29.5	39.5	69.0	100.5	4.2919	0.1572	0.1613	1.698
10'-3:	0 18.31	17.5	34.5	52.0	85.5	4.4275	0.2885	0.1091	0.955
10'-4:	0 25.52	41.5	52.0	93.5	137.5	3.8427	0.3098	0.2215	1.626
10'-5:	0 24.80	38.5	51.0	89.5	131.5	3.9617	0.3368	1.8880	1.552
10'-6:	0 18.32	28.0	40.0	68.0	103.0	—	—	—	1.528
10'-7:	0 15.00	18.0	30.0	48.0	78.0	3.9179	0.2903	1.7960	1.260
10'-8:	0 15.53	23.0	42.0	65.0	100.8	—	—	—	1.481
10'-9:	0 18.32	25.5	34.5	60.0	95.8	—	—	—	1.391
10'-10:	0 20.36	30.0	39.0	69.0	113.8	—	—	—	1.473

(—): ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identificación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
30'-1:	0 20.00	20.7	35.0	55.7	88.5	4.0550	0.1855	0.1069	1.035
30'-2:	0 19.17	29.5	34.0	63.5	85.0	4.4018	0.2120	1.9387	1.538
30'-3:	0 22.41	25.0	33.5	58.5	90.0	3.9331	0.3506	0.0952	1.135
30'-4:	0 14.68	13.5	38.5	52.0	74.0	4.2547	0.2035	0.2179	0.919
30'-5:	0 14.21	7.7	42.0	49.7	65.0	4.9157	0.3772	0.8869	0.541
30'-6:	0 17.24	21.7	39.0	60.7	94.0	4.5523	0.2645	1.9100	1.258
30'-7:	0 23.10	24.5	53.0	77.5	102.9	—	—	—	1.060
30'-8:	0 17.55	8.5	49.5	58.0	83.4	—	—	—	0.484
30'-9:	0 24.66	25.7	49.0	74.7	100.1	—	—	—	1.042
30'-10:	0 22.78	28.5	40.0	68.5	93.9	—	—	—	1.251

(—): ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identifi cación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso Inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en Peso hígado	% en Peso Páncreas	% en Peso gónadas	PER
50'-1:	0 15.89	5.5	54.0	59.5	71.0	3.6577	0.2332	1.6924	0.346
50'-2:	0 16.63	8.0	36.0	44.0	56.0	4.2901	0.4106	1.2236	0.481
50'-3:	0 20.83	11.0	45.5	56.6	71.5	4.0795	0.2403	1.6907	0.528
50'-4:	0 25.08	22.0	47.5	69.5	96.5	4.2866	0.3016	0.1040	0.877
50'-5:	0 22.05	16.5	49.0	65.5	79.5	—	—	—	0.748
50'-6:	0 14.3	7.5	32.5	40.0	46.5	3.5351	0.3118	0.1201	0.524
50'-7:	0 21.47	10.5	42.0	52.5	65.3	—	—	—	0.489
50'-8:	0 15.20	8.5	38.0	46.5	39.0	4.4406	0.3660	0.1488	0.559
50'-9:	0 15.83	9.5	36.5	46.0	61.0	—	—	—	0.600
50'-10:	0 12.91	2.7	37.0	39.7	59.5	—	—	—	0.209

38

(—): ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identifi cación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso Inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
60'-1:	0 13.42	11.5	46.0	47.5	62.5	4.0494	0.3886	1.7457	0.856
60'-2:	0 21.84	19.0	38.0	57.0	75.0	2.9059	0.3234	0.0986	0.869
60'-3:	0 18.02	9.5	32.0	41.5	55.7	4.0799	0.2994	0.1154	0.527
60'-4:	0 18.13	13.0	54.0	67.0	79.5	3.4047	0.1427	1.8023	0.717
60'-5:	0 18.6	11.5	44.0	55.5	71.0	—	0.3589	1.8189	0.618
60'-6:	0 19.28	20.0	35.5	55.5	m u e r t a	.	.	.	1.037
60'-7:	0 21.37	17.5	37.0	54.5	67.5	—	—	—	0.818
60'-8:	0 21.37	16.5	48.0	64.5	83.0	—	—	—	0.772
60'-9:	0 18.39	14.0	42.0	56.0	65.0	—	—	—	0.761
60'-10:	0 15.88	6.0	49.0	55.0	74.5	—	—	—	0.377

(—) ; ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identificación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
80'-1: 0	12.95	13.5	46.0	59.5	83.0	3.8476	0.3159	1.6369	1.042
80'-2: 0	16.04	16.0	47.0	63.0	80.0	4.0327	0.2753	1.7648	0.997
80'-3: 0	12.24	12.5	43.0	55.5	77.5	4.1218	0.3180	0.1541	1.021
80'-4: 0	18.91	16.5	55.0	71.5	79.0	3.7747	0.2087	1.3828	0.872
80'-5: 0	12.99	-0.5	43.5	43.0	m u e r t o	.	.	.	0.040
80'-6: 0	15.82	23.5	36.5	60.0	85.3	3.2418	0.2862	1.4931	1.485
80'-7: 0	17.77	18.0	37.0	55.0	86.0	3.9986	0.3066	0.0991	1.012
80'-8: 0	14.58	17.0	38.0	55.0	70.0	—	—	—	1.165
80'-9: 0	14.8	12.5	36.5	49.0	65.0	—	—	—	0.844
80'-10: 0	13.52	6.5	33.0	39.5	55.0	—	—	—	0.480

40

(—) : ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identificación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
C ₅ -1:	0 6.36	14.5	34.5	49.0	68.0	3.5452	0.3943	2.0821	2.026
C ₅ -2:	0 8.44	30.0	34.0	64.0	99.5	4.7918	0.1508	2.3724	3.159
C ₅ -3:	0 8.14	21.0	38.0	59.0	96.0	3.7489	0.3199	0.1999	2.578
C ₅ -4:	0 11.74	31.0	42.0	73.0	92.5	3.6795	0.2854	1.9961	2.369
C ₅ -5:	0 6.99	0.3	38.3	38.5	37.5	—	—	—	0.042
C ₅ -6:	0 6.36	13.0	33.0	46.0	66.0	3.500	0.4075	0.4059	2.041
C ₅ -7:	0 9.13	29.5	35.5	65.5	78.5	3.7994	0.3131	0.1830	3.229
C ₅ -8:	0 7.15	20.5	38.5	59.0	83.0	—	—	—	2.865
C ₅ -9:	0 9.02	31.0	37.5	68.5	88.5	—	—	—	3.436
C ₅ -10:	0 9.06	11.5	37.0	48.5	58.0	—	—	—	1.268

41

(—): ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 3

Identifi cación (ratas):	Proteína total Ingerida (g)	Aumento en peso (g)	Peso inicial (g)	Peso final a los 28 días (g)	Peso final a los 67 días (g)	% en peso hígado	% en peso páncreas	% en peso gónadas	PER
C ₁₀₋₁ : 0	28.65	66.0	31.0	97.0	176.5	3.9111	0.4457	0.2948	2.303
C ₁₀₋₂ : 0	36.63	82.5	39.0	121.5	224.5	3.5824	0.2260	1.6151	2.252
C ₁₀₋₃ : 0	35.36	102.0	37.0	139.0	258.5	3.8322	0.1996	1.7663	2.884
C ₁₀₋₄ : 0	38.61	110.5	35.0	145.5	247.5	—	—	—	2.861
C ₁₀₋₅ : 0	33.49	86.5	39.5	126.0	207.5	3.4255	0.3311	0.2691	2.582
C ₁₀₋₆ : 0	33.39	76.5	34.5	111.0	188.7	4.2588	0.2266	0.2118	2.291
C ₁₀₋₇ : 0	32.39	88.0	38.0	126.0	192.8	3.3909	0.1855	0.2236	2.671
C ₁₀₋₈ : 0	33.55	89.0	34.5	123.5	218.0	—	—	—	2.652
C ₁₀₋₉ : 0	31.02	83.5	37.0	120.5	215.0	—	—	—	2.693
C ₁₀₋₁₀ : 0	37.73	102.0	40.0	142.0	262.5	—	—	—	2.703

42

(—): ratas enviadas al Dr. V. Tsutsumi del R.N.A.P.

APENDICE 4

TESTICULOS

Identificación	Túbulos seminíferos		Epidídimo			Peso Corporal (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
	Espermatogénesis	Espermatozoides	Células Primordiales	Espermatozoides	Células Inmaduras			
10'-1a	++	++	++	++	+	108.0	2.06	1.91
10'-1b	+++	+++	+	++	+			
10'-5a	++++	++++	+	++++	-	131.5	2.48	1.88
10'-5b	++++	++++	-	++++	-			
10'-7a	++	++	++	++	++	78.0	1.40	1.79
10'-7b	++	++	++	++	++			
30'-2a	++++	++	++	++	++++	85.0	1.64	1.93
30'-2b	++++	++	++	++	+++			
30'-5a	++	-	++++	-	+++	65.0	0.57	1.88
30'-5b	++	-	++	-	+++			

APENDICE 4

TESTICULOS

Identifi- cación	Túbulos seminíferos			Epidídimo		Peso Cor- poral (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
	Espermato- génesis	Espermato- zoides	Células Primor- diales	Espermato- zoides	Células Inmadu- ras.			
30'-6a	+ + +	+ + +	+ +	+	+ +	94.0	1.79	1.91
30'-6b	+ + +	+ + +	+ +	+ +	+ +			
50'-1a	+ +	+	+	+	+ + + +	71.0	1.20	1.69
50'-1b	+ + +	+	+ +	+	+ +			
50'-2a	+ +	-	+ +	-	+ + + +	56.0	0.68	1.22
50'-2b	+ +	+	+ +	-	-			
50'-3a	+ + +	+	+ +	-	+ + +	71.5	1.20	1.69
50'-3b	+ + +	+ +	+ +	-	+ + + +			
60'-1a	+ + +	+	+ + +	-	+ +	62.5	1.09	1.74
60'-1b	+ + +	+	+ + +	-	+ +			

APENDICE 4

TESTICULOS

Identifi- cación	Túbulos seminíferos			Epidídimo		Peso Cor- poral (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
	Espermato- génesis	Espermato- zoides	Células Primor- diales	Espermato- zoides	Células Inmadu- ras.			
60'-4a	+ + +	+ +	+ + + +	-	+ + + +	79.5	1.43	1.80
60'-4b	+ + +	+ +	+ + + +	-	+ + + +			
60'-5a	+ +	+	+ + + +	-	+ + + +	71.5	1.29	1.80
60'-5b	+ + + +	+	+ + + +	-	+ + + +			
80'-1a	+ + +	+	+ + + +	-	+ + + +	83.0	1.35	1.63
80'-1b	+ + +	+	+ + + +	-	+ + + +			
80'-2a	+ +	+	+ + + +	-	+ + +	80.0	1.41	1.76
80'-2b	+ +	+	+ + + +	-	+ + +			
80'-4a	+ +	+	+ + + +	-	+ + +	79.0	1.09	1.38
80'-4b	+ +	+	+ + + +	-	+ + +			
80'-5	Muerto durante el experimento							

APENDICE 4

TESTICULOS

Identificación	Túbulos seminíferos			Epidídimo		Peso Corporal (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
	Espermatogénesis	Espermatozoides	Células Primordiales	Espermatozoides	Células Inmaduras			
C _{10-2a}	+	+	+	+	+	224.5	3.62	1.61
C _{10-3b}	+	+	+	+	+			
C _{10-3a}	+	+	+	+	+	258.5	4.56	1.76
C _{10-3b}	+	+	+	+	+			
C _{5-1a}	+	+	+	+	+	68.0	1.41	2.08
C _{5-1b}	+	+	+	+	+			
C _{5-2a}	+	+	+	+	+	99.5	2.36	2.37
C _{5-2b}	+	+	+	+	+			
C _{5-4a}	+	+	+	+	+	92.5	1.84	1.99
C _{5-4b}	+	+	+	+	+			

a,b = 2 testículos por animal

APENDICE 5

OVARIOS

Identificación	Folículos primarios	Folículos en desarrollo	Folículos atrésicos	Folículo de Graaf	Cuerpo lúteo	Peso Corporal (gramos)	Peso del órgano total	Peso del órgano %
C _{10-1a}	+	+	+	+	+	176.5	0.52	0.29
C _{10-1b}	+	+	+	-	+			
C _{10-4a}	+	+	+	+	+	207.5	0.55	0.26
C _{10-4b}	+	-	+	+	+			
C _{10-6a}	+	+	+	+	-	188.7	0.39	0.21
C _{10-6b}	+	+	+	-	+			
C _{10-7a}	+	+	+	+	+	192.8	0.43	0.22
C _{10-7b}	+	+	+	+	+			
C _{5-3a}	+	+	+	+	+	96.0	0.19	0.19
C _{5-3b}	+	+	+	+	+			

APENDICE 5

OVARIOS

Identificación	Folículos primarios	Folículos en desarrollo	Folículos atrésicos	Folículo de Graaf	Cuerpo lúteo	Peso Corporal (gramos)	Peso del órgano total	Peso del órgano %
C _{5-6a}	+	+	+	+	+	66.0	0.05	0.07
C _{5-6b}	+	+	+	+	+			
C _{5-7a}	+	+	+	+	+	78.5	0.14	0.18
C _{5-7b}	+	+	+	+	-			
10'-2a	+	+	+	+	+	100.5	0.16	0.16
10'-2b	+	+	+	-	+			
10'-3a	+	+	+	+	+	85.5	0.09	0.10
10'-3b	+	+	+	+	+			
10'-4a	+	+	+	+	+	135.0	0.30	0.22
10'-4b	+	+	+	+	+			

APENDICE 5

OVARIOS

Identifi- cación	Folículos primarios	Folículos en desa- rrollo	Folículos atrésicos	Folículo de Graaf	Cuerpo lúteo	Peso Cor- poral (gramos)	Peso del órgano total	Peso del órgano %
3 0'-1a	+	+	+	+	-	88.5	0.89	0.10
30'-1b	+	+	-	+	-			
30'-3a	+	+	+	+	-	90.0	0.08	0.09
30'-3b	+	+	+	+	-			
30'-4a	+	-	+	+	+	74.0	0.16	0.21
30'-4b	+	+	+	+	+			
50'-4a	+	+	-	+	-	96.5	0.10	0.10
50'-4b	+	+	+	+	-			
50'-6a	+	+	+	+	-	46.5	0.05	0.12
50'-6b	+	+	+	+	-			

APENDICE 5

OVARIOS

Identificación	Folículos primarios	Folículos en desarrollo	Folículos atrésicos	Folículo de Graaf	Cuerpo lúteo	Peso Corporal (gramos)	Peso del órgano total	Peso del órgano %
50'-8a	+	+	+	+	-	39.0	0.05	0.14
50'-8b	+	+	+	+	-			
60'-2a	+	+	+	+	-	75.0	0.07	0.09
60'-2b	+	+	+	+	-			
60'-3a	+	+	+	+	-	55.7	0.06	0.11
60'-3b	+	+	+	+	-			
*1								
80'-3a	+	+	+	+	+	77.5	0.11	0.15
80'-3b	+	+	+	+	+			
80'-7a	+	+	+	+	-	86.0	0.08	0.09
80'-7b	+	+	+	+	-			

50

*1 60'-6 muerta durante el experimento

APENDICE 6

HIGADOS

Identifi- cación	alcohol	vacuolas	formol	glucógeno	Peso cor- poral (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
10'-1	+ + +		+ + + +	+ + +	108.0	4.69	4.34
10'-2	+ + +		+ + +	+ + +	100.5	4.31	4.29
10'-3	+ + + +		+ + +	+ +	85.5	3.78	4.42
10'-4	+ + + +		+ + +	-	137.5	5.28	3.82
10'-5	+ + +		+ + +	-	131.5	5.20	3.96
10'-7	+ + +		+ + +	+ +	78.0	3.05	3.91
<hr/>							
30'-1	-		+ + +	+ + +	88.5	3.58	4.05
30'-2	+ + +		+ + +	+ + +	85.0	3.74	4.40
30'-3	+ + +		+ + +	+	90.0	3.53	3.93
30'-4	+ + +		+ + +	+ + +	74.0	3.14	4.25
30'-5	+ + +		+ + +	+ +	65.0	3.19	4.91
30'-6	+ + + +		+ + + +	+ + + +	94.0	4.27	4.55

APENDICE 6

HIGADOS

Identificación	alcohol	vacuolas	formol	glucógeno	Peso corporal (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %	
50'-1 0	+	+	+	+	+	71.0	2.59	3.65
50'-2 0	-		+	+		56.0	2.40	4.29
50'-3 0	+	+	+	+	+			
50'-4 ♀	+	+	+	+	-	96.5	4.13	4.28
50'-6 ♀	+	+	+	+	+	46.5	1.64	3.53
50'-8 ♀	+	+	+		+	39.0	1.73	4.44
<hr/>								
60'-1	+	+	+	+	+	62.5	2.53	4.04
60'-2 ♀	+	+	+	+	+	75.0	2.71	3.62
60'-3 ♀	+	+	+	+	+	55.7	2.27	4.07
60'-4	+	+	+	+	+	79.5	2.70	3.40
60'-5	+		+	+	-	71.5	—	—
*1 60'-6 ♀								

*1 60'-6 ♀ muerta durante el experimento

APENDICE 6

HIGADOS

Identifi cación	alcohol	vacuolas	formol	glucógeno	Peso cor- poral (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %			
80'-1	+	+	+	+	+	+	-	83.0	3.19	3.84
80'-2	+	+	+	+	+	+	+	80.0	3.22	4.03
80'-3	+	+	+	+	+		+	77.5	3.19	4.12
80'-4	+	+	+	+	+	+	+	79.0	2.98	3.77
*2 80'-5										
80'-7	+	+	+	+	+	+	+	86.0	3.43	3.99

*2 80'-5 0 muerto durante el experimento

APENDICE 6

HIGADOS

Identificación	alcohol	vacuolas	formol	glucógeno	Peso corporal (gramos)	Peso del órgano total (gramos)	Peso del órgano %
C ₁₀₋₁	-		+	+	176.5	6.90	3.91
C ₁₀₋₂	-		+	-	224.5	8.40	3.58
C ₁₀₋₃	-		-	+	258.5	11.05	3.83
C ₁₀₋₄	-		-	-	267.5	7.10	3.42
C ₁₀₋₆	-		-	-	188.7	8.03	4.25
C ₁₀₋₇	-		-	+	192.8	6.53	3.39
<hr/>							
C ₅₋₁	+		+	-	68.0	2.41	3.54
C ₅₋₂	+		+	-	99.5	4.76	4.79
C ₅₋₃	+		+	+	96.0	3.59	3.74
C ₅₋₄	+		+	+	92.5	3.40	3.67
C ₅₋₆	+		+	-	66.0	2.31	3.50
C ₅₋₇	-		+	-	78.5	2.98	3.79

REFERENCIAS.-

- 1.- AOAC. "Official methods of analysis", 11th ed. Assn. of Offic. Anal. Chem. Washington, D. C., 1975.
- 2.- Aykroyd, W. R., y Doughty, J. "las leguminosas en la Nutrición Humana", Ed. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, - 1964.
- 3.- Berra, E. R., Nieto, Zoila., Aluja, Aline de., Ruíz, J. L., y Ortega, María Luisa. Nutritional, histological and chemical studies on mexican black beans (*Phaseolus vulgaris*). Proceedings, 37th Annual Meeting, - Inst. of Food Techn. Philadelphia, Pa. 1977.
- 4.- Dullen, A. H. A parametric analysis of growing CFHB - (Wistar) rat. J. Anat. 121,2:371-383 (1976).
- 5.- Encuestas Nutricionales en México (encuestas familiares). Inst. Nacional de Nutrición. Estadísticas 1963-1974, México, D. F.
- 6.- Galina-Hidalgo, C.S.A. A study of development of testicular function and an evaluation of testicular biopsy in farm animals. Tesis de doctorado. University of London, 1973.
- 7.- Galván, C. F. Programa de Leguminosas Comestibles.

CIAT, México, D. F., 1973.

- 8.- Gold, A. And. Costello, L. Effects of semistarvation on rat liver, kidney and herat mitochondrial function J. Nutr. 105:208-214 (1975).
- 9.- Gómez, R., Elias, L.G., Molina, M. R. de la Fuente, G. and Bressani, R. Changes in Chemical composition and nutritive value of common beans and other legumes during house cooking. In "Nutritional aspects of Common Beans and other legume Seeds as Animal and Human Food" Ed. Jaffé, W.G. p. 93 Proceedings of a Meeting held. - Nov. 6-9 Ribeirao Petro, Brazil. USAID, Washington, D. C. .
- 10.- Gunawardana, V.K., and Scott, M.G.A. Ultraestructural studies on the differentiation of spermatids in the domestic fowl. J. Anat. 124,3:741-755, (1977).
- 11.- Heard, C.R.C., Frangi, S.M. and Wright, P.M. Biochemical characteristics of different forms of protein energy malnutrition: and experimental model using young rats. Br. J. Nutr. 37:1-21 (1977).
- 12.- Haines, P.C. and Lyman, R.L. relationship of pancreatic enzyme secretion to growth inhibition in rats fed soy-bean trypsin inhibitor. J Ntr. 74;445-451, (1961).
- 13.- Hegarty, P.V.J. Some biological considerations in the

- nutritional evaluation of foods. Food Technol. 29,4:-
-52-61, (9175).
- 14.- Hernández, F. "Historia de las Plantas de la Nueva España", Ed. Azor, México, D.F. 1942.
- 15.- Hurrell, R.F. and Carpenter, K.J. Mechanisms of heat damage in proteins. 8. The role of sucrose in the susceptibility of protein foods to heat damage. Br. J. --
Nutr. 38:285-289, (1977).
- 16.- Ishino, K. and Ortega, María Luisa. Fractionation and characterization of mayor reserve proteins from seeds of *Phaseolus vulgaris*. J. Agric. Food Chem. 23.3: 529-533, (1975).
- 17.- Jaffé, W.G., González, I.D., y Mondragón, María C. --
Composición de caldos de frijoles. Arch. Latinoamericana nos de Nutr. 26:31-41 (1976).
- 18.- Jaffé, W.G. y Flores, María E. La cocción de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). Arch. Latinoamericanos de nutr. 25:79-89, (1975).
- 19.- Kakade, M.L. and Evans, R.J. Growth depression of rats fed fractions of raw navy beans. 7th Annual Research -
Conference on Dry Beans, p. 61. Ithaca, N.Y. 1964.
- 20.- Lang, K. y Rudolf, S. "Tratado de Nutrición, Fisiología, Patología y Terapéutica.", Ed. Aguilar, Madrid, --

1957.

- 21.- Liener, I. Toxic factors in edible legumes and their elimination. Am. J. of Clinical Nutr., 11:281-291 1962
- 22.- Liener, I. Legume toxins in relation to protein digestibility. A review. J. Food Sci. 41:1076-1081, (1976).
- 23.- Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd. Ed. Mc Graw-Hill Co. 1968.
- 24.- Marquardt, R.R., Campbell, L.D. and Ward, T. Studies with chicks on the growth depressing factors in Faba Bean (*Vicia Faba* l. var. minor.) J. Nutr. 106;275-282, 1976.
- 25.- Millares, J. H. "Historia Universal", Ja. Ed. Patria México, D.F., 1966.
- 26.- Miranda, J. y Jiménez, W. "Historia de México", 5a. Ed ECLASA, México, D.F., 1970.
- 27.- Miranda, C.S. Origen de *Phaseolus vulgaris*. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura, México, D.F., 1962.
- 28.- Mirante, R. Clasificación del frijol en México. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. México, D.F., 1961.

- 29.- Molina, M.R., de la Fuente, G. and Bressani, R. Inlationships between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* 40:587---591 (1975).
- 30.- Moraes E Santos, T., Dutra de Oliveira, J. E. Valor Nutritivo de Frações proteicas isoladas do feijão (Ph. vulg. L.). *Arch. Latinoamericanos de Nutr.* 22:547-559, (1972).
- 31.- Osner, R.C. and Johnson, R.M. Nutritional and Chemical changes in heated casein. 1. Preliminary study of solubility, gel filtration pattern and aminoacid pattern. *J. Food Techn.* 9:301-308 (1974).
- 32.- Pak, Nelly., Araya, H., y Caffatti, C. Calidad Protéica y contenido de hemaglutininas en semillas tiernas y en estado seco de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) var. coscorón. *Arch. Latinoamericanos de Nutr.* 26:91-97 -- (1976).
- 33.- Palmer, R., Mc Intosh, A. and Putzai, A. the nutritional evaluation of kidney bean (Ph. vulg.). The effect on nutritional value of seeds germination and changes in trypsin inhibitor content. *J. Foods S. Agric.* 24:--937-944 (1973).
- 34.- Pieniazek, D., Rakowska, M. and Kunachowicz, H. The --

- participation of methinine and cysteine in the formation of bonds resistant to the action of proteolytic enzymes in heated casein. Br. J. Nutr. 34:163-164 -- (1975).
- 35.- Principales datos bioestadísticos de la República Mexicana. Inst. Mexicano del Seguro Social. Subdirección General Médica. Departamento de Medicina Preventiva. - México, D.F., 1971.
- 36.- Rackis, J. Natural toxicants in legumes and oilseeds: identification and removal. Food Safety IFT short course, p. 19, 1975.
- 37.- Seidl, D., Jallé, M., and Jaffé, W. Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. J. Food. Chem. 17,6:1318-1324. (1969).
- 38.- Statistical Yearbook. United Nations, New York 1959 - has 1971.
- 39.- Stewart, R.J.C., Preece, R.F. and Sheppard, H.G. Twelve generations of marginal protein deficiency. Br. J. -- Nutr. 33:233-253 (1975).
- 40.- Vieira, C. "O Frijoleiro Común. Cultura, Doenças e Melhoramento", Ed. Viçosa, Minas Gerais, 1967.