



20/1/7

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**EFFECTOS DEL ENVEJECIMIENTO ACELERADO
SOBRE FACTORES ANTINUTRICIONALES EN
FRIJOL. (Phaseolus vulgaris)**

**TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO-FARMACEUTICO-BIOLOGO
P R E S E N T A N
JOYCE DARYSABEL ALVAREZ RIOS
VICTORIA DINORAH VERDEJO COSS Y LEON**

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

		<u>PAGINA</u>
1	INTRODUCCION	1
2	GENERALIDADES	4
2.1.	FACTORES ANTINUTRICIONALES	7
2.1.1.	INHIBIDORES DE TRIPSINA	7
2.1.2.	ACIDO FITICO	9
2.1.3.	INHIBIDORES DE ALFAAMILASA	10
2.1.4.	HEMOAGLUTININAS	11
2.1.5.	SAPONINAS	12
2.1.6.	GLUCOSIDOS CIANOGENICOS	12
2.1.7.	PROMOTORES DE FLATULENCIA	13
2.1.8.	FAVISMO	15
2.1.9.	LATIRISMO	15
3	OBJETIVO	17
4	MATERIALES Y METODOS	18
4.1.	MATERIA PRIMA	18
4.2.	CARACTERIZACION FISICA	18
4.2.1.	PORCENTAJE DE GRANOS DAÑADOS ROTOS O EXTRAÑOS	18
4.2.2.	PORCENTAJE DE IMPUREZAS	18
4.2.3.	PESO HECTOLITRO	18
4.2.4.	PESO DEL GRANO	19
4.2.5.	DENSIDAD RELATIVA	19
4.2.6.	TAMAÑO DEL GRANO	19

4.3.	TIEMPO DE COCCION	19
4.4.	CARACTERIZACION BROMATOLOGICA	20
4.5.	DETERMINACION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA	20
4.6.	DETERMINACION DE FITINA	21
4.7.	DETERMINACION DE INHIBIDORES DE ALFA AMILASA	22
4.8.	DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"	25
5	RESULTADOS Y DISCUSION	26
5.1.	CARACTERIZACION FISICA	26
5.2.	TIEMPO DE COCCION DETERMINADO POR EVALUACION SENSORIAL	30
5.3.	ANALISIS BROMATOLOGICO	31
5.4.	INHIBIDORES DE TRIPSINA	33
5.5.	DETERMINACION DE FITINA	37
5.6.	INHIBIDORES DE ALFA AMILASA	40
5.7.	DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"	46
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
7	BIBLIOGRAFIA	51

1 I N T R O D U C C I O N .

Entre los recursos vegetales más importantes se encuentra la familia de las leguminosas, la cual comprende una amplia variedad de géneros y especies, como chícharos, frijoles garbanzos y lentejas, que durante siglos y en muchos casos milénios han formado parte de la dieta básica de los pueblos del Medio Oriente, la India, Asia, Centro y Sudamérica.

Las leguminosas son plantas que presentan gran variación de tamaño, desde pequeñas hierbas erguidas, pasando por enredaderas, arbustos y árboles.

Distribuidas por toda la superficie del globo son muy conocidas en las zonas templadas y abundan en los trópicos, especialmente en los de América y África.

Las leguminosas constituyen probablemente la fuente más importante de proteínas en la dieta de grandes segmentos de la población mundial, particularmente en aquellos países en los que el consumo de proteína de origen animal está limitado por su poca disponibilidad o en donde habiendo dichas proteínas no las consumen por motivos culturales y religiosos.

El frijol y las leguminosas en general tienen un alto contenido de proteínas siendo ricas en hierro, tiamina, riboflavina, niacina, potasio, fósforo, fibra y carbohidratos complejos, no contienen colesterol y tienen una proporción muy alta de sodio y grasas saturadas.

Actualmente se ha incrementado el consumo de leguminosas debido a su alto contenido proteico, a su gran aportación calórica y a su bajo costo en relación a las proteínas de origen animal. Sin embargo las proteínas son fuentes pobres de aminoácidos esenciales, principalmente aminoácidos azufrados como son metionina y cisteína. Muchas son también un tanto deficientes en triptofano e isoleucina; aunque poseen un elevado contenido de lisina, por lo que son consideradas como suplementarias para los cereales.

Aunque las leguminosas se han convertido en parte importante de la dieta humana, resulta irónico que contengan una amplia variedad de sustancias que pueden ser consideradas tóxicas o antinutricionales para los animales y el hombre. Estas sustancias, impiden un máximo de aprovechamiento de esta fuente alimenticia.

En México existe una amplia variedad de leguminosas de diferente calidad. Se puede decir que el frijol de género Phaseolus es uno de los cultivos básicos en la agricultura de México, constituye parte de la alimentación del pueblo, ocupando el tercer lugar en importancia nacional después del maíz y el trigo.

Según estadísticas de 1984, la producción anual en nuestro país de ésta leguminosa fue de 1'287,856 toneladas. (Secretaría de Comercio, México 1985).

Por las razones anteriores es interesante el tratar de identificar y cuantificar los factores antinutricionales que se presentan en las especies Bayo y Negro, que se encuentran

entre las de mayor consumo (S.A.R.H., I.N.I.A., 1984). Adicionalmente se estudiaron especies mejoradas sometidas a tratamientos de envejecimiento acelerado para obtener un frijol endurecido (Bayo 400 y Michigan 800), ya que se ha observado que se tiende a comercializar este tipo de frijol en algunas tiendas comerciales, considerándose un frijol endurecido a aquel grano cocido que bajo condiciones de presión y temperatura (100°C , 1 atmósfera de presión) presenta un tiempo de cocción mayor de 4.5 horas (Ramírez, 1986).

2. GENERALIDADES

La familia de las leguminosas (que algunos botánicos consideran orden) comprende más de 11,000 especies (Durvan, 1970) y no sólo es la tercera en importancia entre la familia de las fanerógamas sino una de las más valiosas en el orden económico.

Por ejemplo del frijol común género Phaseolus, (Fig. 1), originario de la región mesoamericana, derivan unas 20 especies mejoradas genéticamente y cerca de 50 criollas.

Originalmente el frijol fue una planta exclusiva de los trópicos, pero su cultivo se ha extendido a las zonas templadas, incluso hasta zonas frías, por otra parte su adaptabilidad a casi cualquier altitud ha permitido que se cultive en todo el mundo.

Desde tiempos muy remotos se ha venido cultivando el frijol en toda América y en cada región se le da un nombre diferente. (Cuadro 1).

En México se consumen principalmente las variedades canario, bayo, pinto, ojo de cabra, ojo de liebre, cacahuatero, ayocote, rosita, negro de Querétaro y negro de Veracruz. Eristen también la alubia grande y chica que son variedades blancas de frijol. El consumo anual nacional para 1984 fué de 1'468,961 toneladas (Secretaría de Comercio, México 1985)

Composición química y valor nutritivo: muchos investigadores han estudiado la composición y el valor nutritivo de algunas leguminosas de uso común (Jaffé y Col. 1972).

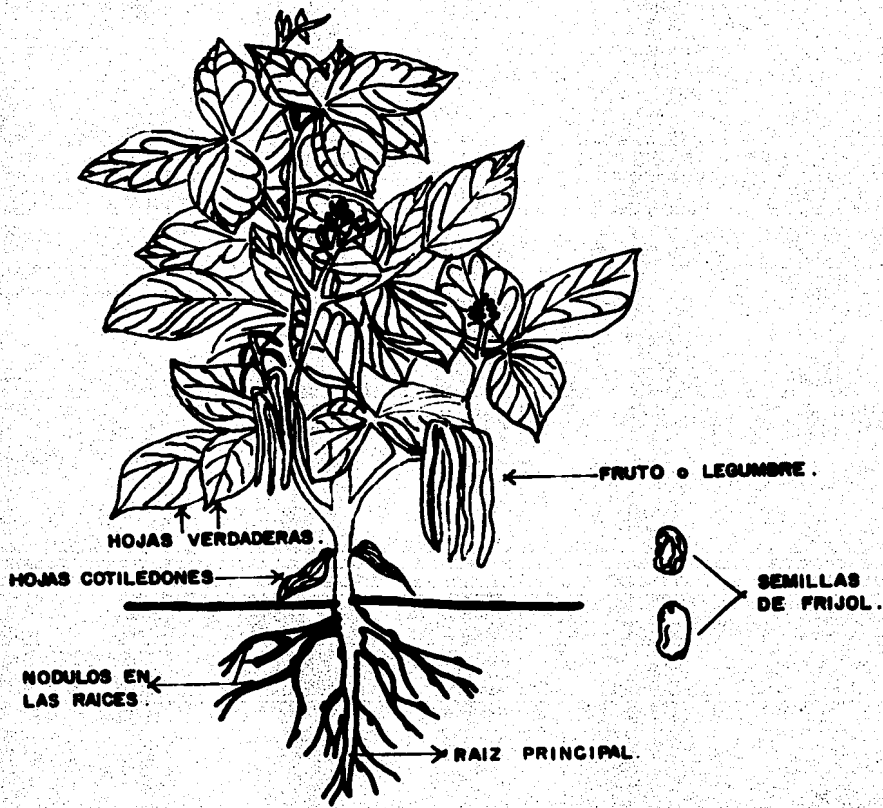


FIG. 1. PLANTA DE FRIJOL.

CUADRO 1

DIFERENTES NOMBRES CON LOS QUE SE CONOCE
AL FRIJOL (PHASEOLUS VULGARIS) EN VARIOS
PAISES.

PAIS	NOMBRE COMUN CON QUE SE LE CONOCE.
BRASIL	FREJOL O FEIJO
COLOMBIA	JAIBA O CARAOTA
ECUADOR	FREJOL
ESPAÑA	ALUBIA
PANAMA	POROTO
REPUBLICA DOMINICANA	HABICHUALA
VENEZUELA	CARAOTA
MEXICO	FRIJOL

Así de una manera general podemos decir que las leguminosas contienen entre 18 y 25% de proteínas y ésta es de dos clases: globulinas y albúminas.

Son pobres en contenido graso, con excepción de soya y cacahuate, que son ricas en ácidos grasos indispensables, en general son fuente abundante de vitaminas y minerales, no contienen colesterol y son ricas fuentes de fibra y carbohidratos complejos (sprox. 60%).

Las proteínas del frijol son pobres en metionina y la mayoría son solubles en agua con sal calentada a 90°C. (Jaffé, 1975). Actualmente en todo el mundo la deficiencia de proteínas en la alimentación humana es un problema muy serio, acentuándose dicho problema en América Latina.

Las leguminosas por su alto valor protéico, suplementadas con cereales y otros alimentos, ayudan a resolver este problema. Por esto adquieren mayor interés los factores antinutricionales presentes en ellas, para conocer las condiciones en las cuales se pueden destruir o disminuir sus efectos.

2. 1 FACTORES ANTINUTRICIONALES.

Existen un gran número de sustancias tóxicas en las diferentes variedades de leguminosas que son consideradas como inhibidores nutricionales, como son inhibidores de tripsina, ácido fítico, inhibidores de amilasas, hemaglutininas, saponinas, promotores de flatulencia, etc. (Valle, 1986)

2. 1 1 INHIBIDORES DE TRIPSINA

Entre los factores antinutricionales más estudiados en leguminosas se encuentran los inhibidores de tripsina llama

dos así, por su capacidad para inhibir la acción de la tripsina, que es una enzima proteolítica que se libera del páncreas al intestino delgado de hombres y animales. A los inhibidores se les encuentra en el frijol de soya, frijoles de diversas variedades, solanáceas (papa) y tubérculos, así como en la clara de los huevos de diferentes aves, como la gallina el faisán, el pingüino y el pavo, (Arteaga, 1976).

Estos inhibidores de proteasas son de carácter protéico, forman compuestos inactivos estables con diferentes enzimas proteolíticas, especialmente tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasa B. Aunque los inhibidores de proteasas son estables en un amplio intervalo de temperaturas se pueden desactivar por tratamientos térmicos, o químicos en soluciones alcalinas. (Jaffé, 1975).

Se ha observado que el consumo prolongado de estos inhibidores provoca una hipertrofia del páncreas, pues se induce en él, la síntesis excesiva de proteasas (Kakade, 1973)

Los inhibidores de tripsina se pueden determinar utilizando como sustrato benzoil arginil etil ester (BAEE), (Baintner 1981) benzoil arginil p-Nitroanilida (BAFNA), (Annick, 1975) o caseína, (Kunitz, 1947).

La Tripsina es capaz de hidrolizar el éster étilico de N-benzoil L-arginina, liberando al grupo carboxilo del enlace éster, el cual es medible espectrofotométricamente en la zona ultravioleta (Kaplan, 1955)

2. 1. 2. ACIDO FITICO

El ac. fítico es un constituyente de los granos de cereales y leguminosas. Se sabe que disminuye la biodisponibilidad del zinc, calcio, hierro y de otros elementos traza en animales monogástricos y en humanos, además interviene en la absorción del hierro. Es por esto que el contenido y la distribución del ácido fítico en las leguminosas es de gran interés.

Se reporta que a pesar de que los frijoles son buena fuente de hierro, no hay una buena absorción y disponibilidad de él, de lo cual el ácido fítico puede ser responsable. (Erdman, 1979).

El ácido fítico es uno de los factores tóxicos termolábiles de los frijoles y para su determinación se le precipita como fitato férrico. El precipitado es separado, lavado determinándose el contenido fosfórico después de una hidrólisis (McCance, 1935). El ácido fítico es calculado mediante el contenido fosfórico. Este método tiene la desventaja de ser tardado.

Un método mucho más rápido fue encontrado por (Young, 1936), en donde el extracto de la muestra es calentado con una solución ácida de Fe^{3+} con un contenido conocido de Hierro. El ac. fítico es precipitado con la solución anterior. El decremento en Fe^{3+} (determinado colorimétricamente con

2-2' biperidina) en el sobrenadante es una medida del contenido de ácido fítico. El método debe ser calibrado con estándares para cada lote de análisis. Un método similar para la determinación de fitatos en soya basado en la textura de la proteína vegetal fue descrito por Davies en 1979, quien modificó un procedimiento previamente presentado por Holt en 1955. Este método determina al hierro con tiocianato, pero tiene el inconveniente de que el complejo formado es destruido por acción de la luz y por tanto los resultados que se obtienen no son muy exactos.

2. 1. 3. INHIBIDORES DE ALFA AMILASAS.

Por definición el término amilólisis se aplica para las reacciones en donde se rompe o degrada el almidón. Y a las enzimas que degradan el almidón se les conoce como amilasas.

En general las amilasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de las uniones alfa 1,4 glucosídicas de los polisacáridos del tipo amilosa, amilopectina y glucógeno.

Las amilasas se clasifican en 2 clases principales: alfa y beta. Ambos tipos hidrolizan los enlaces alfa 1,4 glucosídicos pero de una manera distinta, a las alfa amilasas, son endoenzimas ya que hidrolizan los enlaces localizados en las regiones internas del sustrato liberando productos de diferente tamaño (dextrinas). Las beta amilasas son exoenzimas y sólo hay una unión en la molécula del almidón que es susceptible al ataque de éstas, y es la penúltima unión glucosídica del

extremo no reductor de las cadenas de éste; la beta amilasa ataca de una manera ordenada liberando maltosa, pero a medida que se acerca a las cadenas o puntos de ramificación de la amilopeptina, cesa su acción.

La acción de una enzima puede ser impedida, si cualquiera de los grupos que son necesarios para la catálisis, no están disponibles para interaccionar con el sustrato.

Los inhibidores por lo general son de naturaleza péptica, aunque algunos no son protéicos

Entre los métodos para la determinación de alfa amilasa se encuentran:

Método de Bernfeld (Kaplan, 1955)

Método de Nelson por valores de reducción (Nelson, 1954)

Método electroforético. (O'Farrel, 1975)

Método de tinción con yodo (Hopkins, 1954)

Método de Bernfeld (Methods of Enzymology Ed. Kaplan, 1955)

2. 1. 4. HEMOAGLUTININAS.

Son sustancias capaces de aglutinar los eritrocitos de varias especies de animales. El efecto tóxico de estas sustancias está relacionado con su acción sobre la mucosa y la absorción intestinal.

Se ha encontrado que algunas hemoaglutininas del frijol, son resistentes a la actividad enzimática gastrointestinal, pues en estudios efectuados en ratas se ha observado que las heces presentan acción hemoaglutinante detectable, cuando los

animales ingieren dietas de frijol crudo. (Valle, 1986)

2. 1. 5. SAPONINAS.

Son sustancias que se encuentran en la soya y su acción consiste en una interacción proteína-saponina, impidiendo el aprovechamiento de dicha proteína. Se dice que la saponina inhibe el crecimiento de pollos y que el efecto benéfico del calor se debe a una hidrólisis de la saponina a sapogenina no tóxica. En Cannaivalia gladiata y Cannaivalia ensiforme, existen saponinas que causan vómitos y náuseas a menos que se ingieran remojadas y cocidas. (Valle, 1986).

2. 1. 6. GLUCOSIDOS CIANOGENICOS.

Algunas leguminosas son peligrosas para la alimentación por su toxicidad debida a la presencia de glucósidos cianogénicos, tales como amigdalina, durrina y linamarina. En el Phaseolus lunatus se ha reportado que pueden liberar más de 300 mg. de HCN a partir de 100 g de semillas, además que contienen lunatina (Perrot, 1978). Hay que señalar que la dosis letal oral de HCN para un adulto varía en un intervalo de 30 a 250 mg (Montgomery, 1969).

Se conoce una gran variedad de plantas superiores (frijol Comba de Guerrero, Méx., yuca, sorgo en crecimiento, semillas de limón, lima, manzana, pera, cereza, ciruela, garbanzo y haba) capaces de liberar ácido cianhídrico proveniente de la hidrólisis química o enzimática de glucósidos cianogénicos.

La liberación de HCN a partir de una beta glucósido presente en un vegetal, requiere de una fuente enzimática capaz de liberarlos (hidrolizarlos), generalmente a través de una beta glucosidasa que entre en contacto con su sustrato, esto sucede cuando por ruptura o daño físico se ponen en contacto los glucósidos y la enzima.

Creciendo bajo condiciones ecológicas especiales Phaseolus vulgaris (el frijol común) a veces sintetiza glucósidos cianogénicos y puede liberar cantidades pequeñas de ácido cianhídrico. (Fig. 2).

Se reporta que en frijol Comba de Guerrero, Méx. (Phaseolus lunatus) se ha encontrado que tiene 14.20 mg de HCN por 100g de frijol, y el Patashete, en Chiapas puede tener hasta 9.45 mg de HCN por 100 g de frijol, siendo el límite permisible de 20 mg HCN/100 g de frijol (Ades, 1979).

Es decir que estas variedades a pesar de que se encuentran por debajo del límite permitido, se debe tener precaución en su consumo.

2. 1. 7. FLATULENCIA

Al ingerir frijoles, se tiene una alteración de la fisiología normal del aparato digestivo y en consecuencia se estimula marcadamente la producción de gases, como CO_2 , H_2 , y CH_4 .

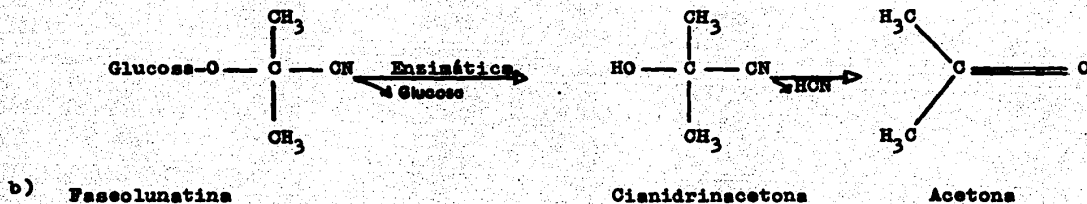
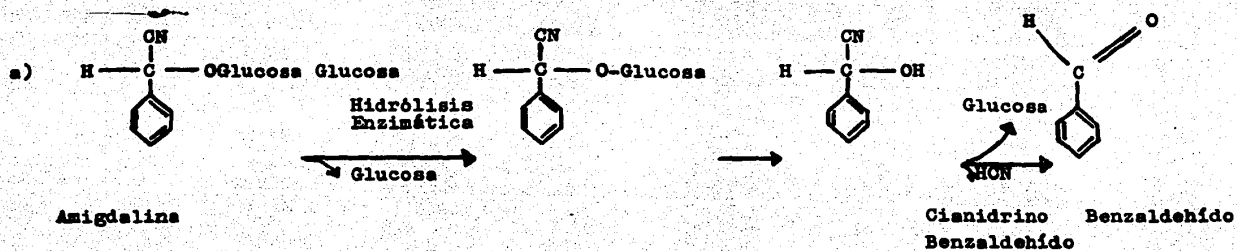


Fig. 2 Liberación de CN^- A partir de Glucosidos cianogénicos
 a) A partir de amigdalina b) y Linamarina

Los compuestos más susceptibles de producir gases son la verbascosa, rafinosa y estaquiosa. (Fig. 3). Las formas en que se puede disminuir la flatulencia es por medio de una extracción alcohólica en el frijol blanco y por tratamiento enzimático en la soya (Valle, 1985)

2. 1. 8. FAVISMO.

Anemia hemolítica, un síndrome característico del favismo, generalmente acompaña la ingestión de leguminosas frescas y no cocinadas de Habas (Vicia faba), ocurre bastante comunmente en algunos de los países del mediterráneo.

Ocasiona además de anemia hemolítica, hemoglobinuria e ictericia, acompañadas con frecuencia de una fiebre alta, en donde las víctimas sufren una anomalía bioquímica heredada que afecta al metabolismo del glutatión de los glóbulos rojos, en relación a la disminución de la actividad de la enzima glucosa 6 fosfato-deshidrogenasa (Valle, 1986)

2. 1. 9. LATIRISMO

El latirismo es una enfermedad en el hombre que se caracteriza por la parálisis espasmódica de los miembros inferiores, se conoce desde los tiempos de Hipócrates, y en tiempos más recientes, ha afectado a algunos segmentos de población en la India. Aunque la etiología de esta enfermedad no ha sido establecida claramente, es asociada generalmente con el consumo de leguminosa Lathyrus sativus. (Liener, 1962)

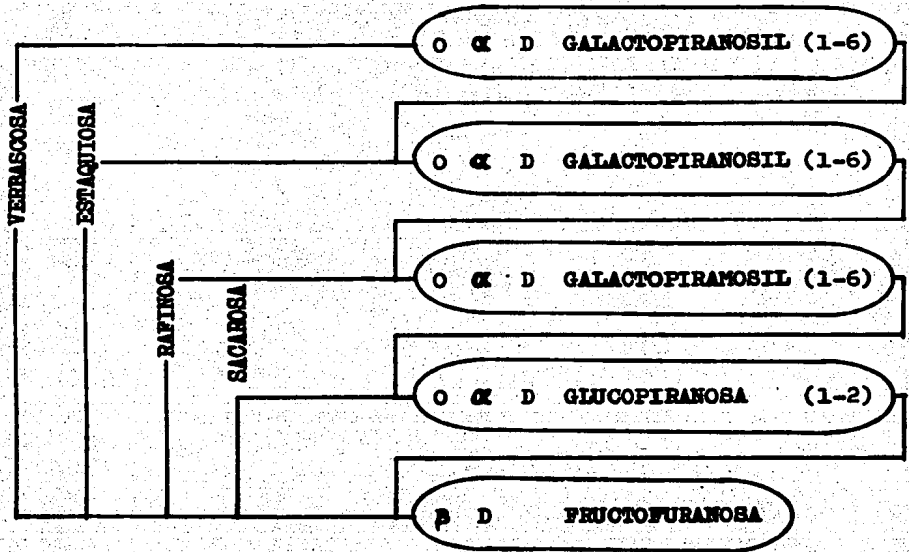


Fig. 3 PROMOTORES DE FLATULENCIA

Geiger y Col (Liener, 1952), encontraron que una enfermedad análoga al latirismo que se causa en el hombre, se produce en ratas cuando se les alimenta de cierto tipo de chicharos, Lathyrus adoratus, así entonces ésta enfermedad en ratas recibe el nombre de adoratismo, equivalente al latirismo en el hombre.

3. OBJETIVOS

En la actualidad se pierden aproximadamente 50,000 toneladas de frijol endurecido por año (Niето, 1986) debido a su almacenamiento inadecuado, por lo cual es necesario conocer si los factores antinutricionales perduran o pierden su actividad, sobre todo si es que éstas 50,000 toneladas se piensan utilizar para diferentes productos industrializados. Esto presenta un problema de considerable magnitud que se traduce en una pérdida económica importante.

El objetivo del presente trabajo es efectuar un análisis cuantitativo de los factores antinutricionales: inhibidores de tripsina, presencia de ácido fítico, inhibidores de amilasa y la repercusión de éstos en la digestibilidad en las variedades negro y bayo comerciales michigan 800 y bayo 400, variedades mejoradas.

Además se determinará el efecto que el envejecimiento acelerado produce sobre algunos de los factores antinutricionales en frijol (Phaseolus vulgaris).

4. MATERIALES Y METODOS

4. 1 MATERIA PRIMA: Se utilizó frijol negro sin envejecer, negro envejecido naturalmente, bayo sin envejecer, los cuales fueron adquiridos comercialmente. Frijol Michigan 800 (resistente al envejecimiento) y bayo 400 (susceptible al envejecimiento), variedades mejoradas proporcionadas por el Instituto de Biología de la UNAM, procedentes del Banco de Germoplasma de frijol de Chapingo. Los frijoles Michigan 800 y Bayo 400 se almacenaron durante 30 días en una humedad relativa de 75% a 41°C.; condiciones que aceleran el envejecimiento de las variedades (Ramírez, 1986).

Todos los análisis se hicieron por triplicado.

4. 2 CARACTERIZACION FISICA

4. 2. 1. Porcentaje de granos dañados, rotos, o extraños. Se tomaron al azar muestras de 100 granos de los diferentes frijoles, en donde se contó el número de granos rotos, dañados y extraños, expresándose el resultado como porcentaje.

4. 2. 2. Porcentaje de Impurezas.- Para esta determinación se pesaron muestras al azar de 100 granos de frijol. Enseguida se procedió a limpiar los granos, es decir, se retiraron las impurezas como basura, paja, piedras, tierra, insectos o cualquier otra materia extraña. Finalmente se pesaron nuevamente los granos y por diferencia se obtuvo el peso de la materia extraña, expresándolo como % de impurezas.

4. 2. 3. Peso Hectolitro.- Esta determinación consiste

en aforar una probeta de un litro con cereal, posteriormente se pesa el grano de la probeta, expresando el resultado final en Kg/100 litros.

4. 2. 4. Peso del grano. Consiste en contar 1000 granos del cereal y pesarlos.

4. 2. 5. Densidad relativa. La determinación consiste en aforar una probeta de 100 ml con el cereal, después de lo cual, el cereal de la probeta se pesa, colocándose nuevamente en la probeta. Enseguida, empleando una bureta, se adiciona a la probeta hexano (en sustitución de petróleo), para llenar los espacios vacíos. El hexano se adicionó hasta el aforo de la probeta, tomándose la lectura de la bureta.

La densidad relativa se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$D = \frac{m}{v}$$

En donde D= densidad relativa; m= peso del cereal en gramos v= aforo total de la probeta+ aforo de la bureta

4. 2. 6. Tamaño del grano. Se midió con un micrómetro la altura, el grosor y el ancho de 100 granos de frijol.

Todas las determinaciones anteriores se efectuaron según los métodos descritos por (Bressani, 1986),

4. 3. TIEMPO DE COCCION DETERMINADO POR EVALUACION SENSORIAL (Táctil).

Es el tiempo requerido para llevar el grano de frijol a condiciones de textura capaz de ser consumido como alimento. Se determinó en base al método subjetivo propuesto por Bressani (1986).

según los métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Para esto se colocaron 100 frijoles en un recipiente que contenía 2 litros de agua hirviendo, cada media hora varios granos fueron removidos del agua y con ellos se realizó la prueba que determina el tiempo de cocción. La prueba sensorial al tacto se realizó oprimiendo un grano de frijol entre el dedo índice y el dedo pulgar, hasta sentirse blando.

4. 4 CARACTERIZACION BROMATOLOGICA

Las determinaciones de Humedad, cenizas, proteína, Grasa, y fibra cruda, se efectuaron según los métodos 14.003, 14.006, 14.108, 14.019 y 14.007 de A.D.A.C. de 1985, respectivamente.

4. 5 DETERMINACION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA.

La preparación del extracto con inhibidores de tripsina se obtuvo a partir de frijol al cual se le ha eliminado la tegata, para lo cual se le permitió embeberse en agua, posteriormente fue secado en estufa a 60°C. y pulverizado finalmente (malla 50), con un molino (Chuo Boeki Goshi Kaisha tipo D). De la harina obtenida se colocaron 0.5 g en un matraz erlenmeyer de 125 ml, añadiéndose 0.2g de NaCl y aforándose a 50 ml con agua destilada. Se mezcló mediante agitador magnético a 120 r.p.m. durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó el extracto durante 20 min. a 12,000 r.p.m. (Borowska, 1981).

Para la determinación de inhibidores de tripsina se uso

el método de Kakade y Col (1969 y 1974), Chang y Tsan (1979), en donde el sustrato ester estílico de N-ben-zoil, L-arginina (BAEE, Sigma) en solución reguladora de fosfatos a pH 7.6, es hidrolizado por tripsina de páncreas de bovino (Sigma) en HCl 1 mM. El producto liberado se lee espectrofotométricamente (Pye Unicam SP 30) a 253 nm. Para el blanco se colocaron 0.3 ml de agua acidulada (HCl 1mM) en una celdilla de cuarzo, se agregaron 3 ml. de sustrato y 0.2 ml. de solución enzimática. Para las muestras se colocaron 0.3 ml de extracto, se agregaron 3 ml. de solución de sustrato y 0.2 ml de solución enzimática. Se midió la absorbancia a 253 nm.

Se define una unidad de tripsina como el cambio de 0.01 de absorbancia a 253 nm por minuto con BAEE como sustrato a pH 7.6 a temperatura ambiente.

Se define una unidad de inhibidor de tripsina (UTI) como la cantidad de inhibidor necesario para inhibir 10% de la actividad del control de actividad triptica.

4. 6 DETERMINACION DE FITINA.

Al grano de frijol se le eliminó la testa y el cubrión, se pulverizó finamente (malla 50) en el molino (Chuo Boeki Gog hi Kaisha tipo D), la harina obtenida fue desengrasada según A.O.A.C. (1985). Se colocaron 0.5g de harina en un astráz en lenneyer de 25 ml. se agregaron 9 ml de solución de sulfato de sodio al 10% y un ml. de HCl 2 N. Esta mezcla se agitó magnéticamente a 120 r.p.m. durante 24 hrs. a 4°C. Posteriormente se centrifugó el extracto durante 50 min. a 3,000 r.p.m. a 4°C.

La determinación de fitina se realizó mediante el método de Haug-Lantzach (1983), en donde se pipeteó 0.5 ml de extracto en un tubo de ensayo y se añadió un ml de solución férrica (0.2 g de sulfato amónico-Férrico . 12 H₂O en 100 ml de HCl 2 N y se aforó a 1000ml con agua destilada), se tapó el tubo, se agitó, y se calentó en baño María aproximadamente a 92°C. durante 30 min. Se dejó enfriar y después se introdujo en un baño de hielo durante 10 min. hasta llegar a temperatura ambiente.

El ácido fítico precipitado como fitina, se centrifugó durante 30 min. a 3000 r.p.m. Se transfirió un ml de sobrenadante a un tubo de ensayo y se añadieron 1.5 ml de sol. de 2-2' biperidina (10 g de 2-2' biperidina más 10 ml de ácido tioglucólico aforados a 1000 ml con agua destilada) y se midió la absorbancia a 519 nm contra agua destilada.

4. 7 DETERMINACION DE INHIBIDORES DE ALFA AMILASA.

La preparación del extracto con inhibidores de alfa amilasa se obtuvo a partir de frijol pulverizado finamente (malla 50) en el molino (Chuo Boeki Goshi Kaisha tipo D). De la harina obtenida se colocó un gramo en un matraz erlenmeyer de 25 ml, se añadió 10 ml de solución de CaCl₂, 20 mM y NaCl 200 mM y se agitó mediante agitador magnético a 120 r.p.m. durante 2 hrs. a 4°C. Posteriormente se centrifugó por 30 min a 3200 r.p.m. a 4°C, con el extracto así obtenido se debe tener cuidado de mantenerlo en hielo y usarse dentro de la primera hora después de realizada la extracción.

Para la determinación de la actividad amilolítica se usó el método de tinción con yodo (Hopkins y Col., 1954) con algunas modificaciones, en donde el sustrato utilizado es almidón soluble (Merck), el cual se diluyó hasta obtener una concentración de 1 mg/ml de almidón, utilizando solución reguladora de fosfatos a pH 7.3.

Como reactivo de trabajo se utilizó una solución diluida de solución concentrada de yodo (la cual estaba formada por 500 mg de yodo resublimado y 5 g de KI en 100 ml de agua desionizada).

Con el objeto de conocer la actividad amilolítica original de las enzimas susceptibles de ser inhibidas se tomó 0.05 ml de solución de enzima, se agregó 0.15 ml de solución de NaCl/CaCl₂ 20 mM y 1.0 ml de sustrato (almidón 1 mg/ml). Se dejó incubar por 4 minutos a temperatura ambiente, pasado éste tiempo, se detuvo la reacción agregando 4.8 ml del reactivo de trabajo (solución de I₂/KI.). Para conocer la actividad inhibitoria se tomó 0.05 ml de enzima, 0.05 ml de solución de extracción y 0.1 ml de extracto, se incubó por 4 minutos a temperatura ambiente, pasado éste tiempo se agregó 1.0 ml de sustrato (almidón) y se incubó 4 minutos, a temperatura ambiente, después de los cuales se agregaron 4.8 ml del reactivo de trabajo para detener la reacción.

Se preparó un blanco con yodo y un control conteniendo yodo y almidón. Se leyó espectrofotométricamente a 620 nm.

Se definió una unidad de actividad amilolítica como los mg

de almidón hidrolizado por ml o mg de enzima por minuto a temperatura ambiente a pH 7.3 para todas las enzimas. Se utilizó enzima de Bacillus subtilis (Tenase de Ennex), enzima salival humana cruda, enzima pancreática de bovino (Fluka).

La actividad amilolítica se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$V_A = \frac{D - D^1}{D} C \times \frac{h}{t}$$

V_A = Actividad amilolítica.

D = Absorbancia de almidón-yodo sin digerir

D^1 = Absorbancia de almidón-yodo digerido

C = Concentración de Almidón

h = Concentración de enzima

t = Tiempo de incubación.

Una unidad de inhibidor de alfa amilasa (U_{Inh}) se definió como la fracción de actividad amilolítica reducida por gramo de muestra.

La actividad inhibitoria fue calculada con la siguiente fórmula:

$$U_{Inh} = \frac{V_{AS} - V_{AC}}{V_{AS}} \times h_I$$

donde U_{Inh} = Unidad de Inhibidor

V_{AS} = Actividad amilolítica sin inhibidor

V_{AC} = Actividad amilolítica en presencia del inhibidor.

h_I = Dilución del extracto

4. 8 DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"

Para la determinación de la digestibilidad "in vitro" de las proteínas se usó el método de Anson y Stalerman (1964), en donde un gramo de harina integral de frijol fue colocado en un vaso de precipitados de 600 ml se agregaron 430 ml de agua destilada, 0.5 g de pepsina (Merck) y 16 ml de HCl al 10% se digirió durante 16 hrs agitando ocasionalmente entre 38-40°C. Posteriormente se agregaron 11 ml de HCl al 10% y con agitación ocasional, se digirió durante 8 hrs más. Transcurrido éste tiempo se añadieron otros 11 ml de HCl se agitó y se digirió por otras 16 hrs, al término de las cuales se agregaron 11 ml de HCl y se digirió 8 hrs más, agitando ocasionalmente. Posteriormente se enfrió el vaso a temperatura ambiente, se filtró y se lavó el residuo con agua a ebullición y se deteminaron las proteínas no digeridas por macro-kjeldhal. La digestibilidad se definió como :

Digestibilidad - $\frac{(\% \text{ Proteínas totales} - \% \text{ Proteínas no digeridas}) \times 100}{\% \text{ Proteínas totales}}$.

Se definió la actividad de pepsina en unidades Anson, que representaba la cantidad de enzimas que libera una milimol de tiro sina a pH 1.6 y a 25°C. de temperatura (Anson, 1938).

5. RESULTADOS Y DISCUSION

5. 1 CARACTERIZACION FISICA

Los resultados de la caracterización física de las muestras crudas se presentan en los cuadros 2, 3, y 4, en lo que respecta al porcentaje de grano dañado de las variedades analizadas, se tiene que éste varía de 1.36% a 4.26% correspondiendo a los frijoles Michigan 800 sin envejecer y Bayo 400 envejecido respectivamente, lo que da idea del manejo postcosecha que han tenido los granos.

El porcentaje de grano extraño fue menor de uno para todas las muestras con excepción del frijol Bayo comercial que presentó 2.59%. Para las variedades Bayo 400 y Bayo comercial ambos sin envejecer se determinaron 8.07% y 1.71% de otras variedades de frijol respectivamente no así para las demás muestras que presentaron porcentajes inferiores a uno.

El porcentaje de impurezas determinado fue menor de uno para todas las variedades estudiadas, con excepción de Bayo 400, tanto envejecido como sin envejecer y Michigan 800 sin envejecer que presentaron 5.17%, 5.21% y 5% respectivamente. Las impurezas más frecuentes fueron basura, piedras, paja y tierra.

En lo que respecta a peso hectolitro, todas las variedades presentaron valores semejantes variando de 70.70 Kg/100 litros para Bayo 400 sin envejecer a 78.70 Kg/100 litros para negro comercial envejecido naturalmente.

La densidad relativa para las muestras analizadas varía 1.21 y 1.35 g/ml.

CUADRO 2
ANALISIS FISICO DE LAS MUESTRAS DE FRIJOL

MUESTRA	% GRANO DAÑADO	% GRANO EXTRAÑO	% GRANO VARIEDADES	% IMPUREZAS
F. NEGRO S/E	2.46	< 1	< 1	< 1
F. NEGRO E/N	3.00	< 1	< 1	< 1
F. BAYO S/E	4.02	2.59	1.71	< 1
F. BAYO 400 S/E	3.51	< 1	8.07	4.21
F. BAYO 400 E	4.26	< 1	< 1	5.17
F. MICHIGAN 800 S/E	1.36	< 1	< 1	5
F. MICHIGAN 800 E	2.82	< 1	< 1	< 1

* Impurezas, como : basura, piedras, paja y tierra.
S/E Sin envejecer
E Envejecido
E/N Envejecido naturalmente

CUADRO 3

ANALISIS FISICO DE LAS MUESTRAS DE FRIJOL

MUESTRA	PESO HECTOLITRO Kg./100 Lt.	DENSIDAD RELATIVA g/ml.	PESO 1,000 GRANOS g/1,000 granos.
F. NEGRO S/E	73.16 ± 0.230	1.340 ± 0.041	321.53 ± 0.318
F. NEGRO E/N	78.7 ± 0.387	1.349 ± 0.026	200.00 ± 0.215
F. BAYO S/E	73.91 ± 0.868	1.320 ± 0.015	248.40 ± 0.09
F. BAYO 400 S/E	70.7 ± 0.624	1.210 ± 0.028	301.00 ± 0.761
F. BAYO 400 E	74.59 ± 0.190	1.350 ± 0.032	264.5 ± 0.480
F. MICHIGAN 800 S/E	77.36 ± 0.680	1.329 ± 0.0079	159.0 ± 0.624
F. MICHIGAN 800 E	75.40 ± 0.335	1.339 ± 0.021	160.2 ± 0.196

CUADRO 4

T A M A Ñ O D E L G R A N O *

MUESTRA	ALTURA (cm)	ANCHO (cm)	GROSOR (cm)
F. NEGRO S/E	1.120 ± 0.086	0.770 ± 0.059	0.580 ± 0.064
F. NEGRO E/N	0.660 ± 0.052	0.659 ± 0.052	0.468 ± 0.032
F. BAYO S/E	0.972 ± 0.105	0.686 ± 0.048	0.520 ± 0.049
F. BAYO 400 S/E	1.354 ± 0.124	0.750 ± 0.058	0.530 ± 0.064
F. BAYO 400 E	1.312 ± 0.107	0.710 ± 0.071	0.520 ± 0.077
F. MICHIGAN 800 S/E	0.560 ± 0.042	0.561 ± 0.042	0.490 ± 0.032
F. MICHIGAN 800 E	0.570 ± 0.032	0.570 ± 0.032	0.490 ± 0.032

* Promedio de 100 frijoles por variedad.

Se puede notar asimismo que el frijol negro y Bayo 400 ambos sin envejecer, presentaron los valores más altos para el peso de 1000 granos con 321.53 y 301.00 gramos respectivamente. Y los valores más bajos los presentaron los frijoles Michigan 800 tanto envejecidos como sin envejecer.

En lo que se refiere a tamaño de grano se puede observar que el frijol de mayor tamaño es el Bayo 400 y el menor tamaño es el Michigan 800. Ramírez (1986) reporta para la caracterización física del frijol negro San Luis lo siguiente:

	Frijol negro endurecido	Frijol negro cosecha 85
Peso de 1000 granos (g)	300	316
Densidad relativa (g/ml)	1.2526	1.2464
Porcentaje de materia extraña	2.70	1.22
Peso hectolítrico (kg/ 100 l)	80.50	79.60
Porcentaje de granos extraños	5.00	2.00

Todas las determinaciones anteriores permiten tener idea del índice de calidad de los granos analizados, que en general se puede decir que es bueno.

5. 2 TIEMPO DE COCCION DETERMINADO POR EVALUACION SENSORIAL (Tactil).

Se consideró como tiempo de cocción cuando la textura del frijol fue granular suave al tacto de los dedos. Durante el cocimiento la textura del cotiledón cambia desde una sensación granular áspera a una sensación granular suave al tacto; si los frijoles continúan en ebullición más del 6pti

mo del tiempo de cocción la textura del grano continúa cambiando. Cuando los granos están sobre cocidos la sensación granular suave cambia a una textura pastosa, probablemente debido al continuo hinchamiento del almidón y ruptura de las paredes celulares (Mattson, 1946).

Los frijoles Michigan 800 tanto envejecidos como sin envejecer presentaron un tiempo de cocción de 1.5 hrs. (cuadro 5), lo cual concuerda con lo esperado ya que se trata de una variedad mejorada resistente al envejecimiento, tomando en cuenta que un frijol endurecido es aquel cuyo tiempo de cocción exceda a 4.5 hrs. (Ramírez, 1986).

Las variedades Negro envejecido naturalmente y Bayo 400 sometido a envejecimiento acelerado presentaron tiempos de cocción mayores de 5 hrs. por lo que se consideran como frijoles endurecidos. Esto se explica porque la variedad Bayo 400 es susceptible al envejecimiento y durante el almacenamiento disminuye el poder de absorción de agua, tanto en la cascarilla, como en el cotiledón de la semilla.

Estos tiempos de cocción tan altos, se ha sugerido que se deban probablemente a que la velocidad de redistribución de los iones de Ca^{++} y Mg^{++} disminuye en el frijol envejecido, ya que durante el proceso de cocción éstos iones abandonan la lamela media (cemento intercelular) perdiendo su solubilización. (Gutiérrez, 1986).

5. 3 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Los resultados del análisis bromatológico de las mues

CUADRO 5

TIEMPO DE COCCION

MUESTRA	TIEMPO DE COCCION (Hrs.)
F. NEGRO S/E	3.30 ± 0.865
F. NEGRO E/N	5.00 ± 0.468
F. BAYO S/E	3.00 ± 0.531
F. BAYO 400 S/E	3.30 ± 0.326
F. BAYO 400 E	5.00 ± 0.315
F. MICHIGAN 800 S/E	1.30 ± 0.260
F. MICHIGAN 800 E	1.30 ± 0.660

* A las 6 hrs. no se había cocido.

tras crudas se presentan en el cuadro 6, en donde puede observarse que todas las variedades de frijol estudiadas tienen aproximadamente la misma composición; igualmente ocurre con las muestras sometidas a envejecimiento acelerado. En general, todas las muestras presentaron contenidos de proteína dentro del intervalo reportado en la literatura, el cual varía de 18 a 32% (Patwardham, 1962).

Los valores obtenidos para grasa, fueron pequeños, variando de 1-2%.

Los resultados de fibra cruda, fueron muy similares en todas las muestras, y concordaron con lo reportado, como por ejemplo para frijol cristal Bayo: cenizas 3.70, proteína 24.50, grasa 1.13, fibra 4.24 carbohidratos 56.43 (Pak, 1973)

5. 4 INHIBIDORES DE TRIPSINA.

En el cuadro 7 y Fig. 4 se presentan los resultados de las determinaciones de inhibidores de tripsina en donde se puede notar que el frijol negro y Bayo 400 ambos sin envejecer, presentaron los valores más altos de inhibidores con 24.87 y 23.93 UTI / ml extracto, respectivamente, y los valores más bajos los presentaron los frijoles Michigan 800 tanto envejecidos como sin envejecer.

Los resultados de los análisis de las muestras cocidas durante 10 minutos en autoclave a 121°C. y 15 lb de presión, permiten observar que la cocción tuvo un efecto destructivo sobre los inhibidores de tripsina, razón por la cual presentaron valores muy bajos cuando el tratamiento fue de 30 mi

CUADRO 6.
ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS MUESTRAS ESTUDIADAS
(GRAMOS/100 GRAMOS DE MUESTRA)

MUESTRAS	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINA	GRASA	FIBRA	CARBO- HIDRATOS
F. NEGRO S/E	9.43 ± 0.209	3.46 ± 0.134	20.73 ± 0.076	1.52 ± 0.054	4.24 ± 0.128	60.62
F. NEGRO E/N	8.88 ± 0.125	4.37 ± 0.072	20.57 ± 0.046	1.46 ± 0.043	4.4 ± 0.270	58.68
F. BAYO S/E	7.49 ± 0.017	3.47 ± 0.056	20.20 ± 0.073	1.97 ± 0.199	5.26 ± 0.335	61.61
F. BAYO 400 S/E	6.95 ± 0.075	4.54 ± 0.114	26.91 ± 0.073	1.31 ± 0.073	5.24 ± 0.008	55.06
F. BAYO 400 E	5.35 ± 0.171	4.56 ± 0.041	27.83 ± 0.058	1.08 ± 0.041	5.57 ± 0.118	55.61
F. MICHIGAN 800 S/E	7.76 ± 0.260	4.28 ± 0.155	21.85 ± 0.026	1.61 ± 0.108	4.60 ± 0.147	59.9
F. MICHIGAN 800 E	5.86 ± 0.039	4.50 ± 0.026	22.31 ± 0.072	1.46 ± 0.063	4.56 ± 0.119	61.31

* Por diferencia
 S/E Sin envejecer

E Envejecido
 E/N Envejecido naturalmente

CUADRO 7

RESULTADOS DE INHIBIDORES DE TRIPSINA
EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS

MUESTRA	CRUDO U.T.I./ml	10 MINUTOS DE COCCION U.T.I./ml	20 MINUTOS DE COCCION U.T.I./ml	% DE DES- 10 MIN.C.	% DE DES- 30 MIN.C.
F. NEGRO S/E	24.09 ± 1.20	18.73 ± 1.57	11.54 ± 1.41	22.27	52.09
F. NEGRO E/N	20.59 ± 0.61	12.74 ± 0.47	8.82 ± 0.32	38.09	57.14
F. BAYO S/E	19.61 ± 0.99	14.93 ± 1.32	11.06 ± 0.90	23.86	43.60
F. BAYO 400 S/E	23.93 ± 1.18	13.16 ± 0.97	8.09 ± 1.25	45.02	66.21
F. BAYO 400 E	20.59 ± 0.87	7.10 ± 1.05	3.10 ± 0.87	65.50	84.92
F. MICHIGAN 800 S/E	16.68 ± 0.76	12.54 ± 0.51	4.96 ± 0.46	22.74	70.25
F. MICHIGAN 800 E	16.24 ± 0.89	11.26 ± 1.79	3.86 ± 1.10	32.50	76.23

S/E Sin envejecer

E Envejecido

U.T.I. UNIDAD INHIBIDOR DE TRIPSINA

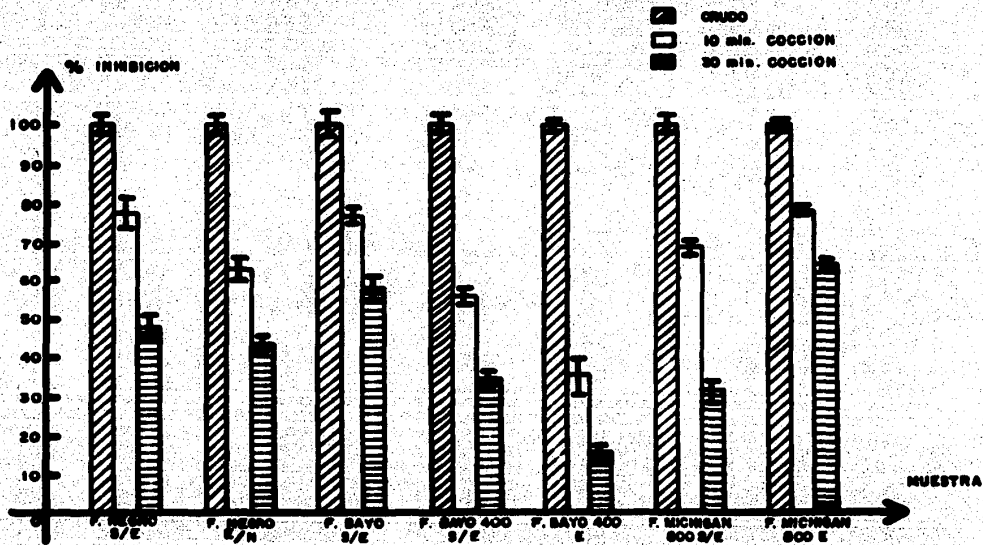


FIGURA 4: HISTOGRAMAS DE REDUCCION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS AJUSTANDO A CADA VARIEDAD. *

* LOS 100 % SE AJUSTARON DE ACUERDO AL CUADRO 7 PARA CADA VARIEDAD.

nutos en autoclave bajo la misma presión. El frijol Bayo 400 envejecido presentó el valor más bajo en 3.104 UTI/ml de extracto.

En general se observa que el envejecimiento tiende a destruir al inhibidor de tripsina desde un 84.92% para el frijol Bayo 400 envejecido aceleradamente, hasta un 57.14 para la variedad Negro comercial envejecido naturalmente, esto respecto al crudo. Esto se debe probablemente a que ocurre una desnaturalización del inhibidor por ser de carácter protéico, ya sea por efecto de la temperatura de envejecimiento (41°C), o bien durante su manejo como se observa en el frijol negro envejecido naturalmente.

5. 5 DETERMINACION DE FITINA

Los resultados de las determinaciones de fitina se presentan en el cuadro 8 y Fig. 5, en donde el frijol Michigan 800 sin envejecer tuvo el valor más alto con 29.135 mg fitina /g cotiledón; y el frijol Negro comercial envejecido naturalmente presentó el valor más bajo con 3.625 mg fitina /g de cotiledón.

Asimismo se observa que la cantidad de fitina disminuyó en 36.12% para la variedad Michigan 800 sometido a envejecimiento acelerado, en 34.16% para el Bayo 400 también sometido a éste tratamiento, y en 69.23% para el frijol Negro envejecido naturalmente, respecto a sus contrapartes sin envejecer. Lo que concuerda con trabajos previos (Gutiérrez, 1986) en donde para frijol ojo de cabra con

CUADRO 8

RESULTADO DE LA DETERMINACION DE
FITINA EN MUESTRAS CRUDAS

MUESTRA	<u>mg. de Fitina</u> g. de cotiledón
F. NEGRO S/E	11.76 ± 0.47
F. NEGRO E/N	3.62 ± 0.18
F. BAYO S/E	11.10 ± 0.72
F. BAYO 400 S/E	20.45 ± 0.82
F. BAYO 400 E	13.46 ± 0.27
F. MICHIGAN 800 S/E	29.14 ± 0.18
F. MICHIGAN 800 E	18.60 ± 0.40

S/E Sin envejecer

E Envejecido

E/N Envejecido naturalmente

Existe diferencia significativa entre las muestras de frijol envejecido y no envejecido.

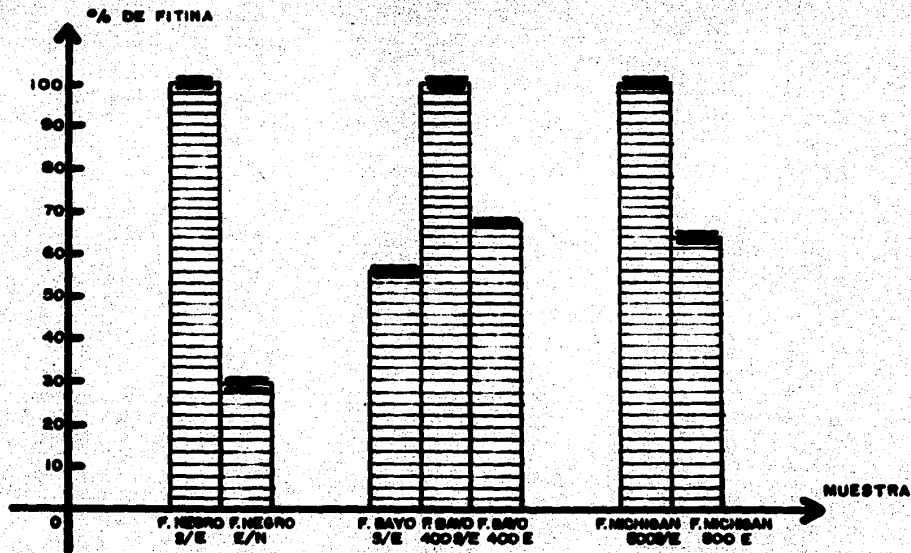


FIGURA 5: HISTOGRAMA DE REDUCCION DE FITINA EN MUESTRAS CRUDAS AJUSTANDO A CADA VARIEDAD.*

*LOS 100 % SE AJUSTARON DE ACUERDO AL CUADRO 8 PARA CADA VARIEDAD.

tiempo de cocción de 4 hr. se reporta 3.51 mg fitina /g de cotiledón, y para esta misma variedad con un tiempo de cocción de 6 hrs. corresponden 2.05 mg de fitina /g de cotiledón.

Se observa que la cantidad de fitina disminuyó en los frijoles envejecidos, probablemente por la actividad de la fitasa durante el envejecimiento.

5. 6 INHIBIDORES DE ALFA AMILASA

Los resultados de las determinaciones de alfa amilasa se presentan en el cuadro 9 y figuras 6, 7 y 8, en donde se puede observar que conforme aumentó el tiempo de cocción disminuyó la cantidad de inhibición presente, además de que existen diferencias susceptibles en el caso de el inhibidor de alfa amilasa salival y bacteriana donde este cocimiento logró destruir al inhibidor, no así para la pancreática que aunque disminuyó, todavía se observó actividad inhibitoria residual a los 30 minutos de cocción.

En general se observó que el envejecimiento tiende a destruir al inhibidor de alfa amilasa. Sin embargo en la alfa amilasa pancreática no se presentó un marcado efecto de inhibición a los 10 y 30 minutos de cocción.

Además desde el punto de vista nutricional, la alfa amilasa salival es más importante, por lo tanto en los resultados obtenidos se observa que el inhibidor de éstas muestras analizadas no es muy activo frente a ésta enzima

CUADRO 9
DETERMINACION DE INHIBICION DE ALFA AMILASA
EN MUESTRAS CRUDAS Y COCCIDAS
 (Uinh/g muestra)

MUESTRAS	ENZIMA SALIVAL			ENZIMA PANCREATICA		
	Crudo	10 Min. Cocción	30 Min. Cocción.	Crudo	10 Min. Cocción	30 Min. Cocción
F. NEGRO S/E	18.79 ± 1.14	0	0	63.86 ± 0.78	40.22 ± 0.504	13.24 ± 1.11
F. NEGRO E/N	20.29 ± 0.19	13.36 ± 0.93	0	68.13 ± 0.90	24.56 ± 0.525	19.56 ± 0.857
F. BAYO S/E	50.74 ± 0.36	0	0	63.86 ± 0.94	27.79 ± 0.14	21.76 ± 0.10
F. BAYO 400 S/E	53.95 ± 0.13	0	0	68.36 ± 1.72	41.53 ± 0.67	19.96 ± 1.05
F. BAYO 400 E	46.71 ± 0.11	40.09 ± 0.18	0	57.91 ± 0.19	39.75 ± 0.44	35.66 ± 0.97
F. MICHIGAN 800 S/E	10.20 ± 0.17	0	0	68.35 ± 1.05	24.22 ± 0.93	23.19 ± 0.69
F. MICHIGAN 800 E	0	0	0	74.39 ± 0.10	45.89 ± 0.83	20.63 ± 0.63
E/N	Envejecido naturalmente			E Envejecido		
S/E	Sin envejecer			Uinh/g Unidades de inhibición por gramo de muestra		

CUADRO 9
CONTINUACION.

NUESTRAS	Crudo	ENZIMA BACTERIANA 10 Min. Cocción	30 Min. Cocción
F. NEGRO S/E	0	0	0
F. NEGRO E/N	25.15 ± 1.32	21.51 ± 2.17	14.13 ± 2.15
F. BAYO S/E	13.53 ± 0.21	1.97 ± 0.714	0
F. BAYO 400 S/E	7.64 ± 0.61	1.97 ± 0.15	0
F. BAYO 400 E	1.75 ± 0.13	0.76 ± 0.08	0
F. MICHIGAN 800 S/E	0	0	0
F. MICHIGAN 800 E	0	0	0

E/N Envejecido naturalmente
 S/E Sin envejecer
 E Envejecido
 Uinh/g Unidades de inhibición por gramo de muestra

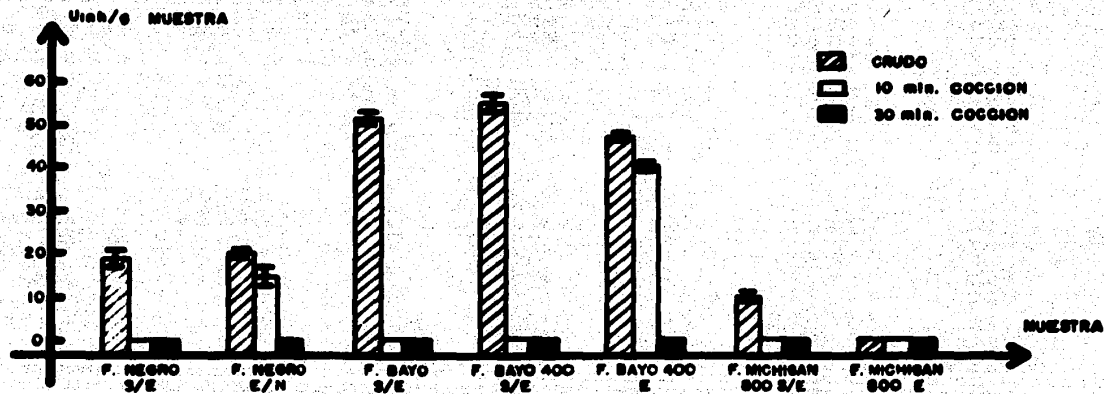


FIGURA 6: DETERMINACION DE INHIBIDORES DE ALFA AMLASA SALIVAL EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS.

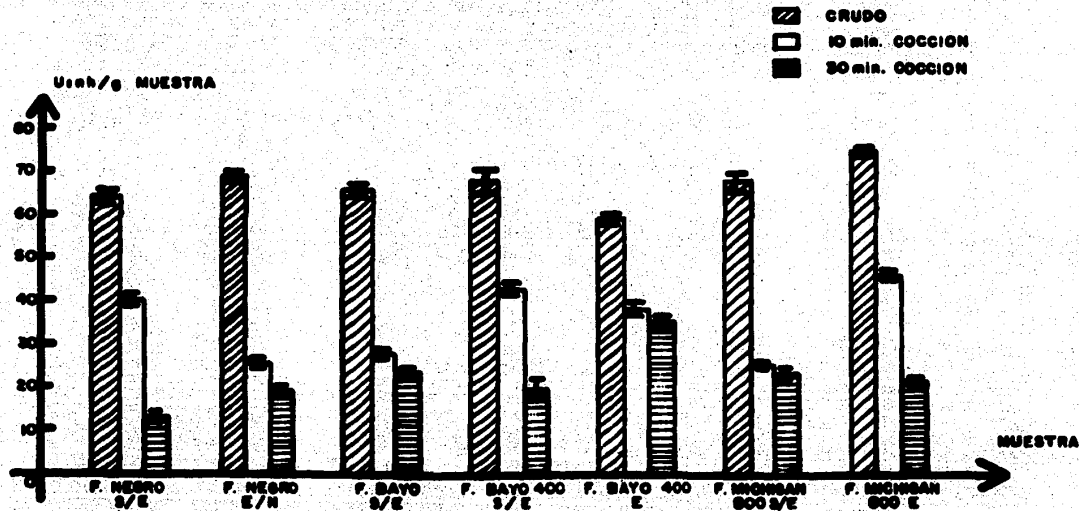


FIGURA 7: DETERMINACION DE INHIBIDORES DE ALFA AMILASA PANCREATICA EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS.

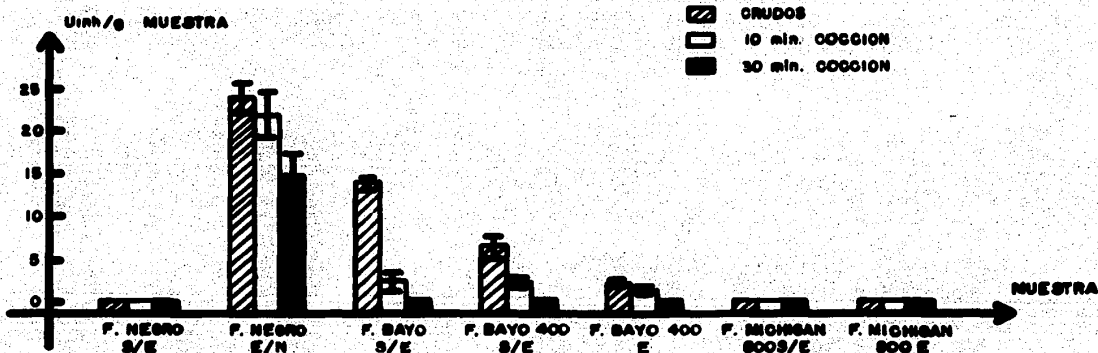


FIGURA 8 : DETERMINACION DE INHIBIDORES DE ALFA AMILASA BACTERIANA EN MUESTRAS CRUDAS Y COCCIDAS.

como ocurre con la pancreática, lo que sugiere que existe cierta especificidad del inhibidor hacia ésta última.

5. 7 DIGESTIBILIDAD "IN VITRO"

En el cuadro 10 y la figura 9, se presentan los resultados de la determinación de la digestibilidad "in vitro" de las muestras crudas. Se puede observar que la digestibilidad de las muestras crudas varía de 80.96 a 70.62% correspondiendo a los frijoles Michigan 800 sin envejecer y Negro envejecido naturalmente respectivamente.

Al mismo tiempo, el envejecimiento disminuyó la digestibilidad "in vitro" para el Michigan 800 en 1.14%. Cabe recordar que ésta última variedad es resistente al envejecimiento y que el frijol negro fué envejecido naturalmente mientras que el Bayo 400 fue sometido a tratamiento de envejecimiento acelerado a 41°C. y 75% H.R. (Cuadro 10)

CUADRO 10
DIGESTIBILIDAD "N VITRO"
EN MUESTRAS CRUDAS

MUESTRA	% DIGESTIBILIDAD.
F. NEGRO S/E	79.88 ± 0.721
F. NEGRO E/N	70.62 ± 0.425
F. BAYO S/E	78.81 ± 0.396
F. BAYO 400 S/E	79.03 ± 0.516
F. BAYO 400 E	71.05 ± 0.195
F. MICHIGAN 800 S/E	80.96 ± 0.324
F. MICHIGAN 800 E	80.04 ± 0.178

Resultados en Base Seca.

S/E	Sin envejecer.
E/N	Envejecido Naturalmente
E	Envejecido mediante tratamiento acelerado

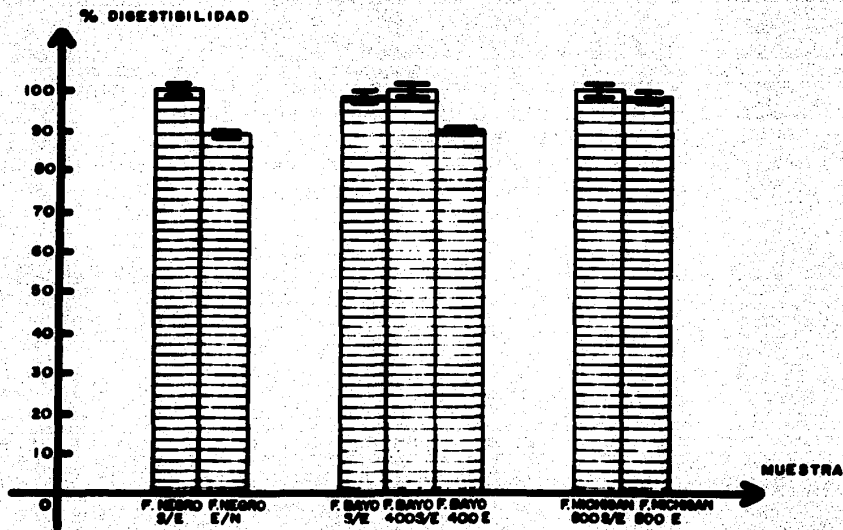


FIGURA 9: HISTOGRAMAS DE REDUCCION DE DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" EN MUESTRAS CRUDAS AJUSTANDO A CADA VARIEDAD.

6 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Después de haber finalizado el presente estudio se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1. El tiempo de cocción aumenta considerablemente en frijol envejecido, siendo a veces mayor de 5 horas.
2. El contenido de inhibidores de tripsina del grano disminuye conforme el frijol se envejece. Así mismo se observa el efecto destructivo de la cocción de 84.92% a 43.60% para las variedades Bayo 400 sometido a tratamiento de envejecimiento acelerado y Bayo comercial sin envejecer respectivamente.
3. El contenido de fitina del grano de frijol disminuye a medida que el frijol se envejece 36.12% para la variedad Michigan 800 sometido a envejecimiento acelerado, 34.16% para Bayo 400 también sometido a este tratamiento y 69.23% para el frijol Negro envejecido naturalmente, respecto a sus contrapartes sin envejecer.
4. A medida que el frijol envejece el contenido de inhibidores de alfa amilasa disminuye en todas las variedades analizadas. Ante enzima salival humana y bacteriana el inhibidor presenta menor actividad si se compara con enzima pancreática de bovino.

5. Se observa que el envejecimiento causa disminución en la digestibilidad "in vitro" de las muestras crudas usando pepsina como enzima.
6. El envejecimiento altera factores antinutricionales en frijol, generalmente disminuyéndolos.
7. Se recomienda evaluar la digestibilidad "in vitro" con pancreatina respecto al uso solo de pepsina.
8. Se sugiere ampliar el estudio a promotores de flatulencia, ácido cianhídrico y hemoaglutininas.
9. Sería de interés evaluar la cinética de la degradación de los factores antinutricionales considerados.

7.- BIBLIOGRAFIA :

- 1.- Ades J. Mendoza F. (1979). Encuesta sobre la presencia de glucósidos cianogénicos en los frijoles del país. Rev. Soc. Quím. Méx. 23 (2) 90-93.
- 2.- Akenson W.B. and Stalerman M.A. (1964). A pepsin pancreatin digestive index of protein quality evaluation J. Nutr., 83, 257-258.
- 3.- Annick R. (1975), Activites proteolytiques et anitrypsine des graines de Vigna unguiculata. Prytochemistry 14, 915-919.
- 4.- Anson M.L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J.Gen Physiol. 22, 79-89.
- 5.- Arteaga Ma. Elena (1976). Inhibidores antinutricionales en leguminosas comestibles, Tesis UNAM.
- 6.- Association of Agricultura Chemist. (AOAC. 1985) Official Methods of Analysis. 12th Ed. Washington D.C.
- 7.- Badui S.D. (1982). Química de los Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana, México.
- 8.- Baintner K. (1981). Trypsin inhibitor and Chymotrypsin inhibitor studies with soybean extracts. J. Agric. Food Chem. 29, 203-204.

- 9.- Bressani R. y Elías L.G. (1986). Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol (Phaseolus vulgaris). INCAP, GUATEMALA, C.A.
- 10.- Borowska J. and. Kozlanka H. (1981). Changes in activity of trypsin inhibitors in bean (Phaseolus vulgaris) and pea seeds (Pisum sativum) during heat treatment. Acta Alimentaria Polónica 31 (3-4), 181-188.
- 11.- Chang G.R. and Tsen C.G. (1979). Note on trypsin inhibitor activity in the acetate extract of cereal samples. Cereal Chem. 56 (5), 493-494.
- 12.- Davies N. and. Reid H. (1979). An evaluation of phytate, zinc, copper, iron and manganese contents of and zinc availability from soyabased textured-vegetable-protein meat-substitutes or meat-extenders. Br. J. Nutr. 41, 579-589.
- 13.- Durvan, S.A. 1970. Gran Enciclopedia del Mundo. Tomo XI, España. Ed. Marín, 851-853.
- 14.- Erdman J.W. (1979). Oilseed phytates. Nutrition implication. J. Amer. Oil Chem Soc. 56, 736-741.
- 15.- Gutiérrez V.G. (1986). Aspectos Bioquímicos del endurecimiento del frijol. Tesis Facultad de Biología, UNAM.
- 16.- Haug W. and. Lantzsch H. (1983). Sensitive method for rapid determination of phytate in cereal and cereal products. J. Sci. Food Agric. 34, 1423-1426.

- 17.- Holt R. (1955). Studies on dried peas, the determination of phytate phosphorus J. Sci. Food Agric. 6, 136-142.
- 18.- Hopkins R.H. and. Bird R. (1954). The action of some ~~al~~ amylases on amylose. J. Biochem. 56, 86-89.
- 19.- Jaffe W.G. y Brücker O. (1972). Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemoaglutininas en frijoles (Phaseolus vulgaris). Arch. Latinoamer, Nutr. 22, 267-281.
- 20.- Jaffé W.G. y Flores M. (1975). La coccion de frijoles (Phaseolus vulgaris), Arch. Latinoamer.Nutr. 25, 79-90.
- 21.- Kakade M. Foffa D. and. Liener J. (1973). Contribution of trypsin inhibitor to the deteriorous effect of unheated soybean fed to rats. J. Nutr. 103,1772-1778.
- 22.- Kaplan J. and. Callowick D. (1955). Methods of enzymology, 1, 149-154, Academic Press, New York.
- 23.- Kunitz M. (1947). Crystalline soybean tripsin inhibitor. J. Gen Physiol. 29, 149-156.
- 24.- Liener I. (1962). Toxic factors in edible legumes and their elimination. Am. J. Clin. Nutr. 11, 281-298
- 25.- Mattson S. (1946). The cookability of yellow peas: a colloid- chemical and biochemical study. Acta

Agric. Suecana II 2, 1985.

- 26.- Mc. Cance R.A. (1935). Phytin in human nutrition. Biochem. J. 29, 2694-2699.
- 27.- Montgomery J. (1969). Cyanogens in toxic constituents of plant foodstuffs. I.E. Liener (Editor). Academic Press, New York.
- 28.- Nelson N. (1954). A photometric adaptation of the Somogy method for determination of glucose. J. of Biol. Chem. 153, 375-382.
- 29.- Nieto Z. y López C.A. (1986). Aplicaciones de la Bioquímica a la tecnología de alimentos. Mensaje Bioquímico tomo IX UNAM.
- 30.- O'Farrel P. (1975). High resolution two dimensional electrophoresis of proteins J. Biol. Chem. 250, (10), 4007-4021.
- 31.- Pak N. y Baria I. (1973). Valor nutritivo de cuatro variedades de frijol (Phaseolus vulgaris) cultivadas en Chile. Arch. Latinoamer Nutr. 23 (4). 495 - 506.
- 32.- Patwardhan J. (1962). Pulses and beans in human nutrition Am. J. Clin. Nutr. 11, 12-17.
- 33.- Ferrot E.M. (1978). Manual de Envenenamientos, Tercera edición. Ed. El Manual Moderno, S.A. México.
- 34.- Ramírez A.T. (1986). Alternativas para el uso de - frijol endurecido. Tesis, Facultad de Química UNAM.

- 35.- Ramírez J. (1986). Comunicación personal. Instituto de Biología, UNAM.
- 36.- S.A.R.H. (1984). Dirección General de Economía Agrícola. México.
- 37.- Secretaría de Comercio (1985). Dirección General de Productos Básicos. México.
- 38.- Valle P. (1985). El lado tóxico de los alimentos. Información Científica y Tecnológica 100, 5.
- 39.- Valle P. (1986). Toxicología de alimentos. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Centro de Ecología Humana y de la Salud, Metepec, Edo. Mex.
- 40.- Young L. (1936). The determination of phytic acid. Biochem. J. 30, 252-257.