

720404

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**

---



**EVALUACION NUTRICIONAL DE 7 FRIJOLES**

**COMESTIBLES DEL ESTADO DE CHIAPAS**

**ANGELICA UVALLE BERRONES**

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1 9 7 8**



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.

TESIS 1978  
ABQ M.T. 438 421  
FECHA \_\_\_\_\_  
PROC \_\_\_\_\_  
L. S. \_\_\_\_\_



JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	Prof. Ninfa Guerrero de Calleja
VOCAL	Prof. Enrique García Galeano
SECRETARIO	Prof. Angela Sotelo López
1er. SUPLENTE	Prof. Alejandro Garduño Torres
2do. SUPLENTE	Prof. Miguel Hernandez Infante

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

División de Estudios Superiores, Facultad de Química U . N . A . M .

SUSTENTANTE

*Angelica Uvalle Berrones*  
ANGELICA UVALLE BERRONES

ASESOR

*Angela Sotelo*  
M. en C. ANGELA SOTELO

Mi perenne agradecimiento a  
quiénes con cariño, esmero  
y dedicación me han enseñado  
el camino de la verdad y la  
superación:

Blas y Eufemia  
a ellos, mi cálido homenaje  
de admiración y respeto.

A MIS HERMANOS

A mis tíos Gregorio y María Luisa  
agradezco las finísimas atenciones  
que para conmigo han tenido.

Mi sincero agradecimiento a la maestra y amiga Angela Sotelo, quien con su interés, paciencia y dirección acertada, me estimuló constantemente, para que fuese posible la realización del presente trabajo.

A MIS MAESTROS

A MIS AMIGOS

Hago patente mi reconocimiento a la  
Organización de Estados Americanos  
bajo cuyo patrocinio se realizó el  
presente trabajo.

## CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCION .....	1
I. GENERALIDADES .....	5
Composición .....	6
Digestibilidad .....	9
Factores Tóxicos .....	11
Producción y Consumo .....	27
Cultivo de frijol en Chiapas .....	32
II. OBJETIVOS .....	35
III. PARTE EXPERIMENTAL .....	36
Materiales .....	36
Métodos .....	36
Análisis Bromatológico .....	40
Determinación de Triptófano .....	51
Determinación de Inhibidores de Tripsina .....	55
Determinación de Hemaglutininas .....	60
Digestibilidad "in vitro" .....	62
Determinación de Aminoácidos .....	65
Pruebas Biológicas para determinar el grado de Toxicidad .....	71
IV. RESULTADOS Y DISCUSION .....	83
V. CONCLUSIONES .....	97
VI. BIBLIOGRAFIA .....	99



## INTRODUCCION.

La alimentación ha sido una de las necesidades apremiantes del hombre y su satisfacción, motor en la formación y progreso de las sociedades.

En la actualidad uno de los principales problemas que se plantea al mundo en general es el asegurar una alimentación adecuada para su población tan numerosa y en tan rápido crecimiento. El problema no se presenta de igual modo en todas las regiones del globo, por una parte en los países desarrollados, donde vive la tercera parte de la población se cuenta con suficientes alimentos, los que en ocasiones son consumidos con exceso, y por otra, en los países de escaso desarrollo, con las dos terceras partes de la población mundial, grandes núcleos sociales sufren de desnutrición en distintos grados.

En México los problemas nutricionales son más acentuados en grupos numerables y mayoritarios como son los niños y las madres embarazadas y lactantes. La desnutrición de estos dos grupos tiene graves consecuencias sobre el futuro económico y social del país, además si la clase trabajadora sufre de desnutrición crónica se limita su actividad física y mental lo que provoca que se disminuya la producción y el ingreso.

El problema de la alimentación deficiente es consecuencia de estos factores:

1. La disponibilidad de alimentos, que depende de factores

geográficos, biológicos, sociales, económicos, culturales; así como del almacenamiento y conservación, del transporte e industrialización y la importación y exportación.

2. El consumo de alimentos, que está determinado fundamentalmente por el poder adquisitivo y los hábitos alimentarios. Asimismo, en la forma de seleccionarlos y la manera de prepararlos y servirlos.

Como una medida tendiente a solucionar el grave problema de la desnutrición en México, deberá de aumentarse en cantidad y calidad los alimentos disponibles, por lo que la atención se debe centrar en alimentos de origen vegetal ricos en proteínas y, además, promover adecuadamente los sistemas de conservación, industrialización y comercialización.

En segundo lugar realizar estudios de investigación que promuevan la búsqueda de nuevas fuentes de proteínas que aumenten el abasto y pongan a la disponibilidad de la población alimentos protéicos de bajo costo y con un alto valor nutritivo.

Entre los alimentos de origen vegetal que se cultivan en México revisten especial importancia los frijoles (*Phaseolus vulgaris*) por las siguientes razones:

- a) Son plantas que se cultivan en todo el país, tanto en el trópico como en las zonas templadas.
- b) En México hay alrededor de 75 variedades cultivables.

- c). Tienen un alto contenido de proteínas de 18 a 22% en grano seco, mientras que en los cereales oscila de 6 a 14%.
- d). Son consumidos por la mayoría de la población pues sus precios son accesibles.
- e). Son fáciles de secar y almacenar.
- f). Se les considera como complemento proteico de toda alimentación hecha a base de cereales, raíces feculentas y tubérculos.
- g). Proporcionan gran utilidad a la agricultura pues gracias a las bacterias nitrificantes presentes en sus raíces tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico mejorando así la composición del suelo.

Sin embargo, presentan algunas desventajas: son deficientes en aminoácidos azufrados, son de difícil digestión provocando trastornos intestinales y flatulencia, en algunas variedades de frijoles se encuentran inhibidores nutricionales y sustancias tóxicas (inhibidores de tripsina, hemaglutininas, glucósidos cianogénicos, alcaloides, etc.), que limitan su consumo; no obstante esto la toxicidad puede eliminarse o reducirse a límites seguros mediante una preparación adecuada, y esas deficiencias de aminoácidos, suplementarlas.

Por todo ello este trabajo pretende dar a conocer las cualida-

des nutritivas de esta maravillosa especie vegetal, con la tendencia de contribuir a mejorar la alimentación de una población cada vez más creciente en todas las latitudes y, en particular, en nuestro país.

## I. GENERALIDADES.

Las leguminosas han sido uno de los primeros cultivos comestibles practicados por el hombre. Su historia como plantas cultivadas se remonta a los tiempos neolíticos, en la época en que el hombre pasaba de la caza y la recolección de frutos, a la producción de alimentos mediante el trabajo, y adoptaba un nuevo medio de vida basado en comunidades agrícolas aldeanas, que a su vez condujeran a la civilización urbana

Con el correr de los siglos, el frijol o fréjol común se ha extendido por todas las partes del mundo, incluso por América, pero en este continente es mucho menos importante que el frijol o habichuela nativos (*Phaseolus vulgaris*) según diversos investigadores, el cultivo de esta planta en México data de seis o más milenios y hay hallazgos que se localizan en la región de Ocampo, Tamaulipas México, en donde se han encontrado restos de melones, calabazas y frijoles (*Phaseolus vulgaris*) a los que, mediante el carbono radiactivo, se ha atribuido una antigüedad de 4000 años A.C. o quizá más. (1)

El frijol se ha cultivado en toda América del Norte, Central y del Sur desde tiempos remotos, y el gran número de nombres que le han dado los indios americanos a las variedades silvestres y a las cultivadas son un nuevo testimonio de su antigüedad.

Casi todos los exploradores españoles los mencionan, el mismo

Colón encontró en Cuba, en 1942, una especie de frijol distinto de los europeos, que le eran familiares, y más tarde observa en Honduras la presencia de variedades rojas y blancas del mismo frijol.

El fréjol o frijol se llevó de América a Europa en el siglo XVI. Al principio, se trataba de un lujo extraordinario que sólo llegaba a la mesa de los ricos pero pronto se extendió su cultivo por toda Europa y hoy día, crece en todas las partes del mundo.

#### Composición de los frijoles.

La importancia desde el punto de vista nutricional se debe a su alto contenido de proteínas. Sin embargo, estas proteínas se considera que tienen un valor inferior en comparación con otras clases de proteínas, ya que son deficientes en metionina, cisteína y en algunos casos en triptófano pero no en lisina, por lo que se consideran como suplementos para los cereales.

Las proteínas en las semillas están localizadas en el cotiledón, en los ejes embrionarios y sólo pequeñas cantidades están presentes en la cáscara de las semillas. Los cotiledones contienen aproximadamente 27% de proteína, mientras que los ejes embrionarios y la cáscara contienen 48% y 5%, respectivamente. Los cotiledones contribuyen con mayor cantidad de proteína, por su gran peso. 2/

En las leguminosas se encuentran dos clases de proteínas: las

globulinas y las albúminas.

Las albúminas representan de 8 a 40% de las proteínas totales y el resto corresponde a las globulinas. Las globulinas son proteínas solubles en solución salina y han sido divididas operacionalmente en dos: legúminas y vicilinas.

Bajaj, (3) encontró que la legúmina tiene mejor calidad proteínica que la vicilina; ésto se atribuye a la composición de aminoácidos, particularmente los azufrados y triptófano pero no isoleucina y lisina.

En la otra fracción proteica, la albúmina se encontró que su calidad biológica es mejor que en otras fracciones, ésto se debe a que contiene mayor cantidad de aminoácidos esenciales, particularmente lisina y aminoácidos azufrados. (3)

### Grasa

El contenido de grasa de la mayoría de los frijoles (*Phaseolus*) oscila entre 1 y 2%. Las grasas de las leguminosas, en general, son ricas en ácidos grasos esenciales.

### Vitaminas.

Tiamina.- El contenido de tiamina de las leguminosas como grupo es más o menos equivalente o excede ligeramente al del conjunto de los cereales. Estos valores oscilan de 0.3 a 1.0 mg/100 g de muestra.

Jaffé y Col. <sup>4/</sup> reportan los siguientes valores para tiamina. Frijoles negros (*Vigna sinensis*) 0.55 mg/100 gr de muestra y 0.40 mg/100 gr de muestra para caraotas rosadas (*Phaseolus vulgaris*).

Riboflavina. - Con respecto a esta vitamina se han reportado valores de 0.12 mg/100 g en caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*) y para caraotas blancas 0.10 mg/100 g de muestra. <sup>4/</sup>

Niacina. - Son los frijoles una fuente bastante abundante de niacina, conteniendo un promedio de 2 mg/100 g de muestra. Se reportan valores para frijoles negros (*Vigna sinensis*) de 1.3 mg/100 g de muestra y para caraotas negras (*Phaseolus vulgaris*) de 1.7 mg/100 g de muestra. Algunas de las leguminosas contienen carotenos y carotenoides, pero no contribuyen mucho como precursores de vitamina A. Los valores de muchas leguminosas, según datos disponibles, son del orden de 50 a 300 unidades internacionales de vitamina A; para el frijol común (*Phaseolus vulgaris*), se reportan aproximadamente como 30 unidades de vitamina A. <sup>5/</sup>

La vitamina K y los tocoferoles también se han encontrado en las semillas de las leguminosas, pero en pocas cantidades.

Vitamina C. - Se han encontrado esta vitamina en las semillas secas. Cravioto y col <sup>6/</sup> encontraron ácido ascórbico en los frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris*), con valores superiores de 3.4 mg/100 g de muestra. Se ha observado que el remojo de las leguminosas en agua, seguida de una fermentación conduce a un incremento en el contenido de ácido.



do ascórbico en productos que se consumen sin cocerse.

### Minerales.

Calcio. - Las leguminosas en general son comparativamente fuentes pobres de calcio en la dieta, el valor más alto reportado es menor de 300 mg/100 g de muestra, por lo que el contenido de calcio está siempre cerca de 100 mg/100 g de muestra ó menos. Para frijoles se reportan 86 mg de calcio/100 g de muestra. <sup>1/</sup>

Hierro. - Son las leguminosas una buena fuente de hierro en la dieta; su contenido varía entre 2 y 10 mg/100 g de muestra. Se reportan 7.6 mg/100 g de muestra para frijoles. <sup>1/</sup>

### Hidratos de carbono.

En su forma seca producen casi tantas calorías por unidad de peso, como los cereales, pues contienen aproximadamente 60% de carbohidratos que, en general, se absorben y se utilizan bien; considerándose buena fuente de energía. <sup>1/</sup>

### DIGESTIBILIDAD.

La digestibilidad se considera como la habilidad de las proteínas de satisfacer los requerimientos diarios del hombre.

Se ha encontrado que la digestibilidad es más baja en algunas proteínas vegetales, que en proteínas animales; esta baja digestibilidad

puede ser causada por factores tales como:

- a). La baja solubilidad que puede reducir probablemente el ataque de las enzimas digestivas.
- b). Fracciones específicas de las proteínas, las cuales pueden ser muy resistentes a la acción digestiva.
- c). La estructura de la pared celular.
- d). La localización de la proteína en la semilla.
- e). Así también el contenido de celulosa y hemicelulosa han sido considerados como la explicación de la baja digestibilidad de varias proteínas vegetales.

En estudios recientes se ha observado que los frijoles son diff ciles de digerirse y pueden causar trastornos estomacales al hombre. 2/ 8/

Aparte de los factores antes mencionados la digestibilidad también se ve afectada por los métodos de elaboración, las cantidades que se consumen y el estado del aparato digestivo.

En el caso de los frijoles, la digestibilidad depende de las condiciones del mismo y del tiempo de cocción. Hellendoorn 9/ ha observado que después de una hora de calentamiento normal la digestibilidad - aumenta alrededor de 85%, pero si la cocción se hace por calentamiento a presión por una hora, la digestibilidad del frijol con buenas propiedau

des de cocción puede ser de 95%.

El coeficiente de digestibilidad de las proteínas de leguminosas varía con gran distribución; valores entre 51 y 92% han sido reportados<sup>6/</sup> sin embargo, para una sola leguminosa se han encontrado grandes variaciones cuando los resultados de diferentes trabajos son comparados.

### FACTORES TOXICOS.

En los frijoles y en algunas leguminosas se encuentran factores tóxicos, los cuales pueden limitar su consumo. La mayoría de estos factores son termolábiles, pero también los hay termoestables.

Esa toxicidad parece que se presenta sólo cuando los frijoles se encuentran en estado crudo pero pueden eliminarse por cocción adecuada. Esto se ha puesto de manifiesto en estudios realizados con animales en experimentación, a los que se les dió dietas de frijol crudo, sin embargo, cuando esos mismos frijoles se someten a un tratamiento de cocción ya no se manifiesta ese efecto tóxico.<sup>10/</sup>

Entre los factores tóxicos presentes en los frijoles tenemos los inhibidores de tripsina, hemaglutininas, glucósidos cianogénéticos, factores antivitaminicos, otros inhibidores de proteasas, inhibidores de amilasa, factores que producen flatulencia y la acción del ácido fítico.

De todos estos tóxicos los más estudiados son: los inhibidores de tripsina y las hemaglutininas.

### Inhibidores de Tripsina.

Un inhibidor de enzimas puede definirse ampliamente como cualquier sustancia que reduce la acción enzimática. En "vivo" la inhibición de una enzima da como resultado:

1. Que se afecte la unión y transformación de un substrato o producto.
2. Hace el substrato indisponible.
3. Interfiere con la biosíntesis de la enzima.
4. Incrementa la liberación de la enzima.
5. Afecta una hormona, la cual a la vez afecta el nivel de la actividad de la enzima.

Las sustancias que afectan la unión y transformación de substratos o productos es el tipo de inhibidor que más frecuentemente se reporta en alimentos, y dentro del cual se incluye la inhibición por proteínas específicas, las cuales forman un complejo fuertemente inactivo. Dentro de este grupo se incluyen inhibidores de tripsina, quimotripsina, amilasa, etc. 11/

Estos inhibidores de proteasas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, particularmente en las leguminosas.

Los inhibidores de tripsina actúan inhibiendo la tripsina que es una enzima proteolítica que se libera del páncreas al intestino del hombre y de los animales. Es un hecho reconocido desde principios de este siglo que las semillas de algunas leguminosas comestibles, cuando se incorporan en forma cruda en dietas experimentales para animales, no permite un crecimiento normal. La ratas o pollos alimentados con raciones que contienen soya cruda tienen un crecimiento menor que si se ingiere una dieta similar pero con soya previamente sometida a autoclave. <sup>12/</sup> Esa pobre contribución al crecimiento de animales de experimentación puede atribuírse grandemente al inhibidor de tripsina, esto podría ser explicado por la hipótesis de Mellniek que sugiere en el caso de la soya cruda que la metionina es liberada más lentamente por las enzimas proteolíticas - del intestino que los otros aminoácidos esenciales, por lo que es insuficientemente utilizado para la síntesis de proteínas; sin embargo, estudios en "vitro" no apoyan esta teoría y han mostrado que el inhibidor de tripsina no retarda específicamente la liberación de metionina pero podría - afectar todos los aminoácidos en el mismo grado. <sup>13/</sup>

Se cree que esa depresión del crecimiento causado por el inhibidor de tripsina es pequeña para poder causar la inhibición de la proteólisis intestinal, pero puede ser el resultado de una pérdida endógena de aminoácidos esenciales de un páncreas hiperactivo que responde, en forma compensatoria, a los efectos del inhibidor de tripsina, en el cual la pérdida de metionina es muy aguda, por ser las proteínas de las legumino-

sas deficientes en estos aminoácidos. <sup>13/</sup>

Sambeth y Col. observaron la hipertrofia del páncreas y simultáneamente una contracción de la visícula biliar después del consumo de dietas conteniendo fracciones de soya con actividad antitriptica mencionan la posibilidad de que se trate de una acción a través de las hormonas pancreozinia o colescistaquinina. <sup>12/</sup>

Both y Col. son de opinión que la hipertrofia pancreática conduce a una pérdida excesiva de proteínas segregadas por el páncreas, es decir, de enzimas pancreáticas ricas en cisteína, por lo que el efecto resultante es la pérdida neta de aminoácidos azufrados. <sup>14/</sup>

Por otro lado, la pobre utilización de las proteínas de las leguminosas ha sido también atribuida a la presencia de los inhibidores de tripsina. <sup>15/</sup> En un estudio comparativo se observó que los índices de digestibilidad de las especies con el mayor contenido en inhibidores tripsicos eran los más bajos pero esa digestibilidad en "vivo" se mejoró por el calentamiento.

Estos inhibidores de tripsina han sido detectados por estudios realizados por varios investigadores quienes los han aislado, purificado y medido su actividad. En el caso de inhibidores de tripsina de los frijoles (*Phaseolus vulgaris*) se ha encontrado que generalmente tienen pesos moleculares bajos (10,000 g/mol) o menos, composición de aminoácidos caracterizados por un alto contenido de ácido aspártico serina y cisteína.

Valina, metionina, tirosina, fenilalanina están presentes en pequeñas cantidades, no contienen triptófano ni carbohidratos. <sup>16/</sup>

También se ha encontrado algunos inhibidores naturales con actividad inhibidora doble; entre los inhibidores que tienen la capacidad de inhibir la tripsina y quimotripsina se encuentran los del frijol lima, el Bowman-Birck de la soya, etc. <sup>17/</sup>

Wilson y Laskuski <sup>18/</sup> estudiando el inhibidor de frijol Garden (*Phaseolus vulgaris*) encontraron que éste tenía tres insohibidores, los cuales fueron purificados, caracterizados y determinados sus sitios activos con los resultados siguientes:

1. La fracción purificada se recupera con un 90% de actividad.
2. Se detectaron estos tres insohibidores por una purificación en cromatografía de intercambio iónico en DEAE-celulosa y fueron caracterizados como I, II y III<sub>p</sub>.
3. Estos presentan un alto contenido en ácido, aspártico, serina y cisteína. Valina, metionina y fenil alanina están presentes en pequeñas cantidades y el triptófano está ausente en los tres componentes.
4. Se determina que no son glicoproteínas.
5. Su peso molecular aproximado fue de 8100 a 9000

6. El iso<sup>i</sup>nhibidor I tiene lisina en el sitio activo, mientras que el iso<sup>i</sup>nhibidor II tiene arginina.
7. Por lo que respecta a su actividad inhibitoria a los iso<sup>i</sup>nhibidores I, II, III<sub>b</sub>, tienen actividad inhibitoria similar con la tripsina (2.57, 2.65, 2.78 unidades/mg), respectivamente, pero no con la quimotripsina, pues mientras los iso<sup>i</sup>nhibidores I y II inhiben a la quimotripsina debilmente el III<sub>b</sub> es un inhibidor muy potente teniendo una actividad de 2.84 unidades/mg; además, este iso<sup>i</sup>nhibidor III<sub>b</sub> posee 2 sitios independientes para tripsina y quimotripsina.

Recientemente algunos autores han podido aislar el complejo que forma el inhibidor de tripsina y quimotripsina, tal es el caso del inhibidor de soya Bowman-Birck, cuyo peso molecular promedio con la tripsina o quimotripsina fue 32,000 y el del complejo ternario fue 55,000.<sup>17/</sup>

Los efectos tóxicos de las leguminosas pueden ser parcial o totalmente eliminado por métodos apropiados de cocción.

Inhibidores de tripsina.

El grado de destrucción del inhibidor de tripsina por el calentamiento es función de la temperatura, duración del tratamiento, tamaño de partículas y condiciones de humedad.

En general se ha observado que el inhibidor de tripsina es usual



mente destruído en autoclave a una presión de 15 L<sub>b</sub>/ pulg. para un tiempo de 15-20 minutos, esto es en el caso de la soya. En los frijoles (*Phaseolus vulgaris*), se requiere previo remojo toda la noche y el mismo tratamiento térmico para inactivar el inhibidor de tripsina. <sup>19/</sup>

Otros reportes nos indican que los tratamientos térmicos por vía húmeda eliminaron casi completamente el inhibidor de tripsina, independientemente si se realizaba remojo, o si la muestra estaba entera o molida. <sup>20/</sup>

#### Hemaglutininas.

Son sustancias que tienen la propiedad de aglutinar células de glóbulos rojos de diferentes animales, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y, en especial, en las semillas de leguminosas. Debido a su especificidad de actuar sobre los eritrocitos de varias especies de animales. Body y Shapliegh <sup>21/</sup>les propusieron el término de lectinas de la palabra latina "legere" que significa elegir.

La presencia de las hemaglutininas en las leguminosas se puso de manifiesto debido a que provocaban una marcada inhibición en el crecimiento y un alto índice de mortalidad en animales, a los que se les da experimentalmente dietas constituidas por frijoles o soya cruda, y este efecto tóxico no se debía a los inhibidores de tripsina. <sup>13/</sup>

El efecto tóxico de las hemaglutininas ingeridas está probable-

mente relacionado por su acción sobre la mucosa gástrica y la absorción intestinal. Jaffé,<sup>12/</sup> supone que lo que causa el efecto tóxico oral es que la hemaglutinina se combina con los grupos receptores en la superficie de las células de la mucosa gástrica, interfiriendo en la absorción de los nutrientes, y que, esa actividad hemaglutinante, se deba probablemente a una reacción entre la aglutinina, con ciertos grupos receptores situados en la superficie de las membranas de los eritrocitos.

En el caso de los frijoles (*Phaseolus vulgaris*), se ha observado que las hemaglutininas que contienen son resistentes a la actividad digestiva del tracto gastrointestinal. Esto puede demostrarse por la acción hemaglutinante detectable en los extractos de heces de ratas después de la ingestión de una dieta preparada con frijoles crudos.<sup>22/</sup>

Aparte de la actividad hemaglutinante, se ha observado que extractos de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) y de otras leguminosas, tienen la interesante propiedad de inducir mitosis en linfocitos humanos en cultivo.<sup>23/</sup>

La toxicidad de las hemaglutininas de diferentes variedades de frijoles, pueden variar considerablemente, así como también las obtenidas de un mismo lote; estas diferencias en toxicidad pueden deberse a distintas causas:<sup>24/</sup>

- a). El color de las semillas. - Se ha observado que la toxicidad es diferente según el color del frijol, por ejemplo los frijoles de color rojo y negro provocan la muerte de los anima-

les en experimentación, mientras que el blanco, no.

- b). Muchas muestras comerciales son mezcladas y contienen diferentes tipos de semillas, por lo que en conjunto puede haber semillas de alta y baja toxicidad en varias proporciones; por lo tanto, la toxicidad depende de la cantidad de semillas tóxicas.

Casi todas las hemaglutininas obtenidas de diferentes plantas se distinguen entre sí por su especificidad frente a glóbulos rojos de diferente origen. Cuatro distintos tipos de hemaglutininas pueden ser distinguidos en diferentes variedades de frijol, <sup>25/</sup>

- a). Aglutinan eritrocitos de conejo y eritrocitos tripsinizados de vaca.
- b). Aglutinan sólo eritrocitos de conejo.
- c). Aglutinan sólo eritrocitos de vaca tripsinizados.
- d). Los que no aglutinan ninguno de los dos tipos de eritrocitos (vaca y conejo).

Estos cuatro tipos pueden ser detectados con sangre de hamster tratada con pronasa. Se encuentra también que solo los extractos que aglutinan sangre de conejo, pueden aglutinar sangre humana y de cerdo.

Cuando estos cuatro tipos de frijol, conteniendo esas hemaglutinas,

se suministran en forma de dieta a animales de experimentación, se observó que los tipos A y C produjeron pérdida de peso y muerte, mientras que los tipos B y D no presentaron signos de toxicidad. El crecimiento de las ratas que consumen una dieta preparada con frijoles con alto contenido de hemaglutininas no se mejora con la adición de caseína hidrolizada, mientras que se observó un fuerte estímulo en el crecimiento causado por la suplementación de ese mismo hidrolizado protéico, si la dieta fue preparada con una variedad de frijoles libre de actividad hemaglutinante. 22/

Se ha demostrado que las leguminosas que aglutinan sangre de vaca tripsinizada son altamente tóxicas, llegando a producir la muerte de los animales en experimentación. En humanos provoca vómitos, diarreas y náuseas. 25/

Por estudios químicos realizados en las hemaglutininas aisladas se encontró que son glicoproteínas. 20/ En el caso especial de la hemaglutininas del frijol lima (*Phaseolus Lunatus*) 27/ se reporta que estaba formado por dos componentes: lectina II y lectina III, cuyos pesos moleculares son 247, 100 y 124,400, respectivamente. Estos componentes no contienen metionina, pero poseen 2 residuos de cisteína con peso molecular de 31,000 por subunidad. Son glicoproteínas, el componente II y el III tienen de 3 a 5% de carbohidratos y 4.5% de hexosas, respectivamente, por el análisis de los residuos de carbohidratos del componente III y la mezcla natural de los componentes II y III, por cromatogra-

fía de gas líquido, da de 6 a 7 moles de manosa, 1 mol de fucosas por 31,000 g. de proteína; cantidades traza de pentosas también se encontraron xilosa a niveles menores de 0.5 moles/31,000 g. de proteína y pocas cantidades de arabinosa. Las lectinas del frijol lima mostraron que contienen iones  $Mn^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , observándose que estos eran esenciales para la actividad de la lectina.

Muchos de los factores tóxicos o antinutricionales de las leguminosas pueden ser parcialmente o completamente eliminados por aplicación de los tratamientos térmicos. Este efecto se manifiesta en general por un mejoramiento del valor nutritivo de las proteínas de las leguminosas.

#### Hemaglutininas.

Aunque el efecto tóxico de las hemaglutininas puede ser generalmente eliminado por tratamiento térmico (con las mismas condiciones para inactivar los inhibidores de proteasas) se puede reconocer sin embargo que las condiciones por medio del cual se destruyen completamente las fitohemaglutininas no se han alcanzado. 14/

Debido a la resistencia de las hemaglutininas a inactivarse por calor seco debe controlarse cuidadosamente el uso de leguminosas en productos de panificación e igualmente su utilización, en fórmulas de productos para la suplementación humana, especialmente la infantil, re quiere un cuidadoso control para evitar posibles accidentes. 12/

En un estudio realizado en Chile, para encontrar el tratamiento adecuado para eliminar completamente las hemaglutininas se encontró que aquellos tratamientos en los que la temperatura sobrepasa los  $100^{\circ}\text{C}$  y el ambiente es húmedo serían los mejores. El remojo como único tratamiento no afecta la actividad hemaglutinante, y como pre-tratamiento tampoco influye en su eliminación.<sup>28/</sup>

Cuando hay una reducción del punto de ebullición del agua, en las regiones montañosas (hay que considerar el hecho de que numerosa población de la República Mexicana habita en las regiones montañosas) la cocción de los frijoles es inadecuada ocasionando que se produzca una destrucción incompleta de las hemaglutininas.<sup>10/</sup>

Liener y col. encontraron necesario remojar los frijoles enteros toda la noche antes de someterlos a autoclave para lograr la completa destrucción de las hemaglutininas.<sup>13/</sup>

#### Glucósidos Cianogenéticos.

Es conocido desde hace mucho tiempo que ciertas leguminosas tales como el frijol lima, habas y garbanzo son potencialmente tóxicas porque contienen glucósidos cianogenéticos de los cuales el HCN puede ser liberado por hidrólisis de una enzima presente en el tejido de la semilla, liberándose además glucosa y acetona.

Esta hidrólisis ocurre cuando el frijol es cocido en

agua y mucho HCN liberado se pierde por volatilización. No obstante que el calentamiento promueve la destrucción de la enzima, ocurrieron muchos casos de intoxicación en humanos que habían consumido frijoles lima cocidos. 14/

Gabel y Kruger en 1920 19/ han reportado que cuando el frijol lima es calentado se destruyen las enzimas responsables de la liberación de cianuro, pero cuando se da a humanos, el cianuro puede ser detectado en la orina. Esto conduce a suponer que quizá las enzimas secretadas en el tracto intestinal o por la microflora del colón pueden ser responsables de la liberación de HCN después de la ingestión de frijoles cocidos.

La toxicidad de estos compuestos es bien conocida; el HCN producido es un potente inhibidor respiratorio. El sitio de inhibición es la enzima citocromo oxidasa de la catálisis respiratoria terminal de organismos-anaerobios. Si las dosis son elevadas se produce la muerte como resultado de la anoxia; en el caso de que las dosis no sean fatales, la inhibición de la respiración celular puede ser reversible, eliminándose el  $CN^-$  por un proceso de desintoxicación metabólica. 29/

La capacidad para liberar HCN es variable dentro de una misma variedad como en el caso de frijol lima. El frijol lima blanco de Burma produce 200 mg. HCN/100 g de muestra y en la variedad negro de Puerto Rico, 300 mg HCN/100 g de muestra. 29/

Por lo que se refiere a los frijoles comunes (*Phaseolus vulgaris*) la cantidad de HCN liberada en casi ninguno de los casos es suficiente para producir efectos tóxicos. Jaffé y Col<sup>30/</sup> ha reportado valores de HCN de algunas leguminosas crudas como: caraota rosada 1.2 mg/100 g muestra y caraotas negras 2.1 mg/100 g M.

Contreras y Col<sup>31/</sup> encontraron que los tratamientos más eficaces para eliminar los glucósidos cianogénicos en frijoles fueron aquellos en que previamente se efectúe un remojo, seguido de un proceso térmico por vía húmeda.

#### Factores Antivitamínicos.

En los frijoles Kidney se cree que se encuentra un factor antagónico a la vitamina E esto se pone en evidencia por la necrosis del hígado, la distrofia muscular que presentan las ratas, y los bajos niveles de tocoferoles encontrados en el plasma de pollos.<sup>19/</sup>

El factor antivitamínico de la Vitamina E encontrado en el frijol kidney crudo puede ser parcialmente eliminado por tratamiento térmico.

También se ha observado que cuando se da dietas de harina de soya cruda o de proteína aislada de soya a pollos, presentan un severo raquitismo aún cuando la dieta contiene niveles adecuados de vitamina D<sub>3</sub>, calcio y fósforo; esto se debe tal vez a la presencia de un agente antagónico a la Vitamina D<sub>3</sub> en la soya cruda.<sup>29/</sup>



El efecto raquitogénico podría ser eliminado si la soya se sometiera a autoclave porque la suplementación con el calcio o con fósforo, fue inefectiva.

Edelstein y Guyheim en 1970 <sup>19/</sup> demuestran que la soya cruda es deficiente en vitamina B<sub>12</sub> y que contiene una sustancia lábil al calor que incrementa los requerimientos de esta vitamina. La identidad de este factor antivitaminico permanece sin establecerse.

#### Acido Fítico.

Las leguminosas contienen cantidades considerables de ácido fífico que puede afectar la absorción y el aprovechamiento del calcio, mediante precipitación de sales insolubles en el estómago y en el duodeno. <sup>1/</sup>

Es probable que se aplique la misma conclusión al hierro ya que al combinarse con éste lo hace insoluble y a pesar de que los frijoles son buena fuente de este mineral no hay una buena absorción y disponibilidad de él. Como el ácido fítico es un factor termolábil, puede ser eliminado por métodos adecuados de cocción.

#### Otros Inhibidores de Enzimas.

Además de los inhibidores trípticos que en algunos casos inhiben también la acción de la quimotripsina, existen otros inhibidores enzimáticos en algunas leguminosas, los que han sido estudiados muy poco.

Learmonth<sup>32/</sup> describió una inhibición de la actividad proteolítica de la papaína por extractos de soya.

Seidl y Jaffé<sup>12/</sup> han estudiado la inhibición que ejerce una globulina de (*Phaseolus vulgaris*) sobre pepsina, tripsina, papaína y otras proteínas y atribuye a dicha globulina cierta importancia nutricional porque su concentración en las semillas es elevada.

#### Inhibidor de Amilasa.

Bowman<sup>12/</sup> describió un inhibidor de amilasa en caraotas. Jaffé y Vega para estudiar su posible importancia nutricional, alimentaron ratas con una variedad de (*Phaseolus*) rica en este inhibidor, observando la excreción de gran cantidad de almidón fecal. Sin embargo, cuando se reemplazó el almidón por glucosa en la dieta no mejoró el crecimiento de los animales sometidos a estos ensayos, demostrándose así que el inhibidor de amilasa no fue la causa del mal crecimiento bajo condiciones experimentales. <sup>22/</sup>

#### Flatulencia.

Uno de los principales problemas asociados con la ingestión de leguminosas es la excesiva formación de gas intestinal. El incluir frijoles en la dieta proporciona alrededor del 25% de las calorías al hombre, pero también incrementa de 4 a 10% la formación de gas. <sup>33/</sup>

Los gases que comunmente forman el flatus son principalmente  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{O}_2$  y  $\text{N}_2$ . El bióxido de carbono y el hidrógeno son formados predominantemente por microorganismos anaerobios en la región ileocecal y el metano es un producto de microorganismos aerobios en el cólon. <sup>34/</sup>

En el intento de separar e identificar los factores que causan el gas en los frijoles seco, por sucesivos tratamientos físicos y químicos y probando cada una de las fracciones sucesivas con sujetos humanos y midiendo los resultados de la respiración y el gas. Murphy <sup>34/</sup> encontró que el factor se extrae con una solución alcohólica de etanol al 60%.

En general, se ha observado que los compuestos más susceptibles a producir gas son la rafinosa y la estaquiosa, esos azúcares no son hidrolizados ni reabsorbidos en el intestino delgado, entonces ellos son substratos para la fermentación microbiológica en las partes bajas del intestino.

Calloway <sup>35/</sup> En términos de determinar cual de los frijoles produce más flatulencia muestra que el frijol (*Phaseolus*) es el que encabeza la lista, seguido por la soya y el frijol mungo; los cacahuates estan libres de esta actividad.

#### Producción y Consumo.

En el cuadro 1, se presentan datos sobre la producción de fri-

jol en toda la República Mexicana para los años de 1971, 1972, 1973, 1974 y 1975.

Un análisis de este cuadro muestra:

Que ha decrecido la producción de frijol en los últimos años esta falta de producción aunada al crecimiento demográfico, ha tenido que ser compensada con un increíble aumento en las importaciones. Una consecuencia muy importante de esta baja producción se manifiesta con una reducción importante en las disponibilidades para consumo humano. Durante el período de 1960 a 1970 el país tenía 24 Kg de leguminosas por habitante y por año y recientemente sólo 19 Kg. por habitante por año.

CUADRO 1

PRODUCCION

O.	Superficie cosechada por Ha.	Rendimiento Medio	Producción en toneladas.	Precio rural por ton.	Valor de la producción \$	Comercio Exterior IMP - EXP	Consumo Nacional por ton.
71	1965126	485	953785	1980	188479363	466-153	954095
72	1686746	515	869506	2030	1766400927	12688-38557	843635
73	1869686	539	1008887	2990	3018661175	2454-24662	986679
74	1551877	626	971576	5600	54429448160	39466-376	1010666
75	1752632	586	1027303	6000	6163818000	103323-4823	1125803
medio	1765213	547	966211	3783	3665324391	31679-13714	984176

ente: García M. Roberto. 1971-1975 Consumos Aparentes S.A.G.  
D.G.E.A. Dirección General de Economía Agrícola 1975.

Existen dos fuentes principales de información acerca de la producción y el consumo de leguminosas, a saber: las hojas nacionales de balance de alimentos y las encuestas alimentarias.

En el cuadro 2 , se presentan los datos reportados en las hojas de balance de los frijoles destinados al consumo humano en la República Mexicana de 1971 a 1973.

CUADRO 2.

DISPONIBILIDAD DE FRIJOLES PARA CONSUMO HUMANO EN LA REPUBLICA MEXICANA DE 1971 A 1973.

Año.	Alimento	Kg. Habitante/Año	Disponibilidad en Gramos por Habitante/Día.			
			Peso Bruto	Peso Neto	Proteínas	
1971	Frijol.	14.402	39.457	39.457	7.58	131.0
1972	"	15.104	41.381	41.381	7.94	137.1
1973	"	13.197	36.155	36.155	6.94	110.0

Fuente: Ramírez, J.; y Col.

La Crisis de Alimentos en México. Un Análisis de la Situación Alimenticia en los Últimos Años.

Sección de Economía. Publicación L-23 de la División de Nutrición INN-Conacyt-Pronal; México, 1975.

CONSUMO SEGUN LAS ENCUESTAS ALIMENTARIAS.

La información obtenida mediante las encuestas alimentarias - amplía considerablemente los datos suministrados por otras fuentes. Na

turalmente las encuestas alimentarias sólo se refieren a grupos limitados, no siempre representativos del país en conjunto.

Consumo en México.

En encuestas realizadas sobre la alimentación familiar en 20 zonas de México, tanto urbanas como rurales el promedio de ingestión (no ponderada) de los diversos grupos es de 42 g. por persona, con una oscilación de 11 a 70 g. Estas cifras se refieren sólo al frijol común que es, la leguminosa de mayor consumo.<sup>1/</sup>

Los frijoles se consumen en diferentes partes del mundo de varias maneras. En México el método de preparación más común es por medio de cocción en agua, con adición de sal o sin ella, cebolla, ajo y aceite, de 3 a 5 horas a presión atmosférica, hasta obtener un alimento de consistencia uniforme.

De acuerdo al conjunto de regiones variadas que existen en México podemos percatarnos que el consumo de frijol es de manera muy heterogénea, por lo tanto situamos como ejemplo una tipología de regiones.

REGION NORTE.

VARIEDADES DE FRIJOL QUE MAS SE CONSUMEN.

Sonora.

Pinto.

Chihuahua.

Bayo.

Coahuila.

Mantequilla.

Tamaulipas.

REGION CENTRAL.VARIEDADES DE FRIJOL QUE  
MAS SE CONSUMEN.

Querétaro.

Morelos.

México.

Hidalgo.

San Luis Potosí.

Canario.

Negro Jamapa.

Negro 66 y 172

REGION (Golfo de México)

Veracruz.

Campeche.

Yucatán.

Negro Jamapa.

Arriaga.

Canario.

REGION (Pacífico)

Nayarit.

Jalisco.

Guerrero.

Oaxaca.

Canario

Bayomex.

Criollo.

Chiapas.

En los mercados de los distintos pueblos del estado de Chiapas se observa una enorme variedad de frijoles que se consumen sólo en el estado, o en algunas regiones cercanas.

En la siguiente tabla se muestran algunas de las variedades que se cultivan en el estado de Chiapas.

Frijol	botil.
"	colón.
"	de vara.
"	patashete.
"	chamarrita.
"	gato de enredo.
"	arroz.
"	patashte.
"	barretán.
"	colorado de vega.
"	ivés.
"	negro de enredo.
"	escumite.

#### Cultivo de frijol en Chiapas.

El estado de Chiapas por sus condiciones ecológicas es extraordinariamente propicia para el cultivo de esta leguminosa. 38/

#### Zonas de Cultivo.

Se cultiva en todas las zonas del estado pero las de mayor importancia en los municipios de Cintalpa, Jequipila, Villa Flores, Angel



Albino Corzo, Frontera Comalapa, la Concordia y Carranza. Actualmente en estas zonas se obtienen rendimientos de 500, 800, y hasta 1000 Kg. por Ha., obteniéndose en algunos lugares hasta de 2 toneladas por hectárea.

#### Tipo de Terreno.

El terreno apropiado debe ser de textura media, que no sea muy pesado, ni muy suelto a fin de que los cultivos puedan realizarse sin dificultad y se eviten problemas de emplayamiento, por arrastre de tierra y por el agua de lluvia en los muy sueltos, que impiden la brotación de las plántulas.

#### Epoocas de siembra.

Se acostumbra sembrar en dos épocas, mayo a junio, cuando principia el temporal de lluvia en siembras llamadas de "frijol aventurero" y de septiembre a octubre, cuando el temporal está por terminar, en siembras llamadas de los nortes o de cosecha.

En Chiapas se tienen varias formas o sistemas de cultivo. Se siembra asociado con maíz o sea, en un mismo surco se tienen plantas de maíz y frijol; la otra forma de sembrar es el frijol sólo, siendo - preferible esta última que permite obtener mejores rendimientos.

### Cosecha y Trilla.

El arranque de la planta debe hacerse cuando ésta presente coloración amarilla; se deja secar totalmente y luego se amontana para apisonar con tractor o con animales.

## II. OBJETIVO.

Considerando que los frijoles son la fuente protéica en la dieta de gran parte de la población en México, y asimismo que existen pocos estudios del valor nutritivo y del aspecto toxicológico de muchos frijoles de consumo local, se planeó el presente trabajo para estudiar 7 variedades de frijol que se cultivan en el estado de Chiapas y de los cuales no se han hecho estudios químicos para conocer el valor nutricional de los mismos ni se conoce el contenido de factores antinutricionales. Dadas estas consideraciones, el estudio se divide en las siguientes partes:

- a). Determinar la composición química de los frijoles.
- b). Determinar el contenido de inhibidores nutricionales y tóxicos.
- c). Determinar el contenido de aminoácidos por métodos químicos para evaluar su calidad nutricional.
- d). Pruebas biológicas para determinar el grado de toxicidad de las muestras.
- e). Tratamiento térmico para conocer el grado de destrucción de tóxicos.

### III. PARTE EXPERIMENTAL.

#### a). MATERIALES.

##### a.1 Muestras Utilizadas.

Para este estudio se utilizaron 7 variedades de frijol que se cultivan en el estado de Chiapas.

En el cuadro 3, se enumeran las 7 muestras con su nombre científico.

Estas muestras fueron recolectadas y clasificadas por botánicos especializados. En el cuadro 4, se muestran las características agrónomicas de las muestras estudiadas.

Los pesos promedios de estos frijoles se muestran en el cuadro 5.

##### a.2 Forma en que se utilizaron las muestras.

Las muestras se limpiaron y se molieron en un molino Wiley de laboratorio y en la harina obtenida se hicieron las determinaciones.

#### b). METODOS.

A las muestras se le hicieron las siguientes determinaciones:

Análisis Bromatológico.

Determinación de Triptófano.

Determinación de inhibidores de tripsina,  
 Determinación de hemaglutininas,  
 Digestibilidad "in vitro"  
 Determinación de aminoácidos,  
 Pruebas biológicas para determinar el grado de toxicidad de  
 las muestras estudiadas.

CUADRO 3.

NOMBRE VULGAR Y CIENTIFICO DE LOS FRIJOLES OBTENIDOS EN EL  
 MERCADO DE TAPACHULA CHIAPAS.

Nombre Común	Nombre Científico.
Frijol Escumite.	<i>Phaseolus acutifolis.</i>
Frijol Botil.	<i>Phaseolus coccineus.</i>
Frijol de Vara.	<i>Phaseolus vulgaris.</i>
Frijol Patashete.	<i>Phaseolus lunatus.</i>
Frijol Colón.	<i>Phaseolus vulgaris.</i>
Frijol Patashte.	<i>Phaseolus vulgaris.</i>
Frijol Ivés.	<i>Phaseolus vulgaris.</i>

## CARACTERISTICAS AGRONOMICAS DE LAS MUESTRAS

Variedad	lugar de cultivo	hábito de crecimiento	color de la flor.	color de la semilla	ciclo Vegetativo en días.	Mes de siembra	Mes de cosecha	Rendimiento Kg / Ha
F. Escumite	región costera del Edo. de Chiapas.	guía	lila	pinta	75-85	mayo o junio	Agosto o septiembre.	600 a 800 kg.
F. Botil	Valles altos de Edo. de Chiapas.	indefinido	rojo	morada	180	Mayo y Junio	Diciembre Enero y Febrero	1 500 kg.
Frijol de Vara.	Valles altos del Edo. de Chiapas.	indefinido	—	negra	160 a 180	Mayo y Junio	Diciembre y Enero	1 500 kg o más.
F. Pathashete	Centro del Edo. de Chiapas	indefinido	morado	negra	160 a 180	Mayo y Junio	Diciembre y Enero	1 500 kg. o más
F. Ires	—	—	—	Morada	—	—	—	—
F. Patashte	—	—	—	Pinta	—	—	—	—
F. Colón	—	—	—	Café	—	—	—	—

Fuente: Nuñez, G, Samuel  
Comunicación Personal.

## CUADRO 5

## PESO PROMEDIO DE LOS 7 FRIJOLES ESTUDIADOS.

Nombre Común.	Unidades	Peso en g.	Peso promedio.
Frijol Escumite.	100	12.90	0.1290
Frijol Botil.	"	85.00	0.8500
Frijol de Vara.	"	30.07	0.3007
Frijol Patashete.	"	58.40	0.5840
Frijol Colón.	"	14.45	0.1445
Frijol Patashte.	"	42.85	0.4285
Frijol Ivés.	"	70.00	0.7000

b.1 Análisis Bromatológico. 7

El análisis bromatológico, también llamado análisis aproximado esta constituido por 5 determinaciones, las cuales se llevaron a cabo si guiendo los métodos descritos por el A.O.A.C.: 39/

Humedad.

Cenizas.

Proteína cruda.

Grasa cruda.

Fibra cruda.

\* HUMEDAD.

## FUNDAMENTO.

Se basa en la pérdida de agua de la muestra por efecto de la temperatura. El dato se obtiene por diferencia de peso entre la muestra húmeda y la muestra seca.

## MATERIAL UTILIZADO.

Charolas de aluminio o pesafiltros.

Desecador.

Balanza analítica.

Estufa de vacío.



## TECNICA.

Es necesario tener los pesafiltros a peso constante, para lo cual se someterán a una estufa de vacío a una temperatura de 60°C por 2 horas o más hasta peso constante. Estando a peso constante los pesafiltros o charola, se pesan aproximadamente de 3 a 5 g. de muestra mo lida y homogénea y se colocan en una estufa de vacío a una temperatura de 60°C por un tiempo de 5 horas, al término de esas 5 horas, se colo can los pesafiltros en el desecador hasta que alcancen la temperatura ambiente, y se pesan lo más rápido posible.

## CALCULOS.

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

A = Peso del pesafiltro más muestra húmeda.

B = Peso del pesafiltro más muestra seca.

C = Peso muestra.

CENIZAS. ✓

## FUNDAMENTO.

Las cenizas forman la parte mineral de un alimento, al incine rarse una muestra se logra la destrucción de la materia orgánica, ob-  
teniéndolas así como residuos; las cuales se pueden cuantificar.

## MATERIAL UTILIZADO.

Crisoles de porcelana.  
Mechero Bunsen.  
Tripie Metálico.  
Triángulo de porcelana.  
Desecador.  
Balanza Analítica.  
Mufla.

## TECNICA.

Pesar de 3 a 5 g de muestra en un crisol de porcelana previamente preparado. Los crisoles con la muestra, se colocan en posición inclinada en un triángulo de porcelana sobre un tripie y se calientan directamente con el mechero hasta que se carbonice totalmente la muestra. Posteriormente se meten a la mufla a una temperatura de  $550^{\circ}\text{C}$ , durante el tiempo necesario para obtener cenizas blancas o grises que sean homogéneas. Se debe de evitar elevar la temperatura de  $550^{\circ}\text{C}$ , para que no se volatilicen los cloruros. A continuación se dejan enfriar los crisoles colocándose en un desecador para que adquieran la temperatura ambiente y luego se pesan. La diferencia entre el peso del crisol vacío y con cenizas indica el contenido de las mismas.

## CALCULOS.

$$\% \text{ de Cenizas} = \frac{(A - B) 100}{C}$$

A = Peso del crisol más muestra calcinada.

B = Peso de crisol (a peso constante)

M = Peso muestra.

PROTEINA CRUDA. ✓  
(Método Kjeldahl).

## FUNDAMENTO. ✓

La determinación de proteínas consta de 2 pasos que son:

1. Digestión de la muestra. Consistente de la oxidación de los compuestos orgánicos por el ácido sulfúrico a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y por la liberación del nitrógeno como amonio. El amonio existe en la solución de ácido sulfúrico como sulfato de amonio que es de gran estabilidad, de acuerdo con la siguiente reacción.



2. Destilación. Esta sal se hace reaccionar con un álcali fuerte, liberándose el amoníaco que se destila y se recibe en una solución de ácido bórico formándose el borato de que se titula con una solución valorada de ácido. Con el dato anterior se obtiene el % de nitrógeno que se multiplica por

un factor de 6.25 y nos da directamente el % de proteína cruda. ✓

#### MATERIAL UTILIZADO.

Matraces Kjeldahl de 30 y 100 ml.

Matraces elermeyer de 250 ml.

Piedras para la ebullición (digeridas)

Bureta graduada de 50 ml.

Digestor y destilador de micro-Kjeldahl.

Balanza analítica.

#### REACTIVOS.

Solución de ácido bórico al 0.5% (con indicadores) (X)

Mezcla digestiva. (xx)

Solución de HCl 0.01 N

Solución de NaOH al 60%

( x ) Solución de ácido bórico con indicadores:

Se pesan 10 g. de ácido bórico y se colocan en un matraz aforado de 2000 ml. Se le adiciona agua destilada hasta que se disuelva completamente, posteriormente se agregan 70 ml de indicador A y 20 ml del indicador B, se agrega más agua hasta cerca del aforo; se ajusta el color a un tono café rojizo con ácido o base según se requiera

y se afora a 2000 ml.

Indicador A: Solución de fenoftaleína al 0.1% en alcohol etílico, pesar 100 mg. de fenoftaleína aforados a 100 ml con alcohol etílico.

Indicador B: 33 mg de verde bromocresol y 66 mg. de rojo de metilo aforados a 100 ml con alcohol etílico.

( xx ) Mezcla Digestiva. Se mezclan los siguientes reactivos, 3 g. de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 300 ml. de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y 100 ml. de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  por un tiempo de 30 minutos aproximadamente.

#### TECNICA.

Pesar de 15 - 30 mg. de muestra por duplicado y colocarlos en matraces de micro-Kjeldahl de 30 - 100 ml, adicionarle 3 mg de óxido de mercurio, 1 ó 2 ml. de mezcla digestiva y unas piedritas de ebullición. Se colocan los matraces en el aparato de digestión y se calienta por 2 horas aproximadamente.

Una vez efectuada la digestión se deja enfriar el matraz y posteriormente se adicionan 10 ml de agua destilada aproximadamente, a continuación se vacía por la copa de adición al micro destilador enjuagando éste y el matraz con 1 ó 2 ml. de agua destilada varias veces. Después añadir también por la copa de adición 5 ml de NaOH al 60%, en una forma lenta pero continua para que reaccione con la muestra y

se desprenda el amoniaco, el cual se recibe en un matraz que contenga 50 ml de una solución de ácido bórico procurando destilar un volumen de 80 a 100 ml aproximadamente. Al recibir el nitrógeno en la solución de ácido bórico, el indicador que éste contiene vira de color café rojizo a verde esmeralda.

Al final de la destilación se titula el contenido del matraz con HCl 0.01N y se anotan los resultados. Al mismo tiempo de la determinación se hace también el análisis de un blanco con los reactivos.

#### CALCULOS.

$$\% \text{ de Nitrógeno} = \frac{(A - B) \times N \times M_{eq} \cdot N \times 100}{M.}$$

A = ml. de HCl 0.01N usados para titular la muestra.

B = ml. de HCl 0.01N usados para titular el blanco de reactivos

$M_{eq}$  = Miliequivalente de  $N_2$

M = Peso de muestra.

% de proteína cruda = % de nitrógeno x 6.25

#### GRASA CRUDA. ✓

#### FUNDAMENTO.

Esta determinación se basa en que estas sustancias las grasas son solubles en éter etílico anhidro. El cual se calienta hasta que se volatilice, y al hacer contacto con una superficie fría (refrigerante) se

condensa y pasa a través de la muestra arrastrando consigo las sustancias solubles en el éter.

#### MATERIAL UTILIZADO.

Cartuchos o dedales de celulosa.  
Vasos con borde esmerilado.  
Desecador.  
Aparato de extracción Goldfish Lab-Conco.  
Balanza analítica.  
Estufa de vacío.

#### REACTIVOS.

Eter etílico anhidro.

#### TECNICA.

Se colocan los vasos con borde esmerilado en una estufa de vacío a una temperatura de  $60^{\circ}$  -  $62^{\circ}\text{C}$  durante dos horas hasta obtener peso constante. Los vasos se sacan de la estufa y se colocan en un desecador hasta que se enfríen y rápidamente se pesan.

Pesar aproximadamente 2 g de muestra seca la cual se coloca en el cartucho de celulosa y éste a la vez en el extractor Goldfish. En los vasos de borde esmerilado se colocan de 30 a 35 ml. de éter, estos se acoplan al condensador con un empaque y se sostienen con un anillo

de rosca evitando con esto las fugas del sistema.

A continuación se hace funcionar el aparato durante 4 a 5 horas (hasta observar que ya no se extrae grasa), transcurrido ese tiempo se cambia el cartucho por un recolector para recuperar el éter.

El vaso con la grasa extraída se mete a la estufa de vacío a una temperatura de 60° - 62°C, por dos horas aproximadamente, después se deja enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente; se pesa y por diferencia con el peso del vaso se obtiene la cantidad de grasa cruda, la que se expresa como porciento de muestra seca.

CALCULOS.

$$\% \text{ de Grasa Cruda} = \frac{(A - B) 100}{C}$$

A = Peso del vaso más grasa.

B = Peso constante del vaso.

C = Peso de la muestra.

FIBRA CRUDA. ✓

FUNDAMENTO.

Se llama fibra cruda a toda sustancia orgánica contenida en una muestra que resiste el tratamiento de soluciones de NaOH y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.25% hirviendo.



## MATERIAL UTILIZADO.

Vasos Berzelius de 600 ml.  
Matraces Kitasato de 1000 ml.  
Embudos buchner.  
Crisoles de porcelana.  
Paño de lino o papel filtro # 40  
Condensador de Fibra cruda "Lab-Conco"  
Estufa de vacío.  
Mufla.

## REACTIVOS.

$H_2SO_4$  al 1.25%  
NaOH al 1.25%  
Asbesto preparado.

## TECNICA.

En un vaso berzelius se colocan de 2 a 4 g. de muestra desengrasada y 0.5 g. de asbesto preparado, se agregan 200 ml. de ácido sulfúrico al 1.25% que esté hirviendo, después el vaso se coloca sobre la parrilla del condensador. Iniciada la ebullición se mantiene ésta por 30 minutos.

Se filtra el contenido del vaso a través de un paño de lino y se lava con agua caliente hasta la neutralidad, pasar el contenido del filtro al vaso y se adicionan 200 ml. de hidróxido de sodio que esté hirviendo

y se procede de igual forma que en la hidrólisis ácida. Una vez lograda la neutralidad se lava con 25 ml. de alcohol etílico al 95%.

Pasar la muestra a un crisol previamente puesto a peso constante, la cual se seca a una temperatura de 60°C - 62°C durante dos horas en una estufa de vacío, a continuación se pesa.

Después de pesada, la muestra se coloca en la mufla para calcinar el residuo, lo cual se logra a una temperatura de 900°C al cabo de 3 horas se saca de la mufla, se enfría y se pesa. La diferencia de los pesos nos da el contenido de fibra cruda.

#### CALCULOS.

$$\% \text{ de Fibra Cruda.} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

A = Peso del crisol después de secado.

B = Peso del crisol después de calcinado.

C = Peso de la muestra.

#### CARBOHIDRATOS ASIMILABLES (por diferencia) ✓

Esta determinación es absolutamente teórica, ya que para obtener este dato se procede de la forma siguiente: Se suman los porcentajes de Humedad, Cenizas, Proteína Cruda, Grasa Cruda y Fibra Cruda y se le restan a 100 reportándose la diferencia como el % de carbohidratos asimilables en la muestra.

b.2. DETERMINACION DE TRIPTOFANO X NO

La determinación se realizó de acuerdo a la técnica de Lombard y Lange (40)

FUNDAMENTO

La determinación de triptófano en proteínas, se lleva a cabo en las siguientes etapas.

- a). Hidrólisis enzimática de la muestra con papaína.
- b). Purificación de la proteína hidrolizada con una mezcla de hidróxido de potasio y tetracloruro de carbono.
- c). Reacción del triptófano con el p-dimetil amino benzaldehído y el ácido clorhídrico para formar un producto de condensación.
- d). Desarrollo del color azul por oxidación con nitrito de sodio que es proporcional a la cantidad de triptófano presente en la muestra.

MATERIAL UTILIZADO.

Matraces aforados de 100ml.

Pipetas de 5 y 10 ml.

Balanza analítica.

Estufa.

Centrífuga.

Fotocolorímetro.

#### REACTIVOS.

Solución enzimática de papaína al 2%

Buffer de fosfatos 0.4 Molar de p H 7.95

Cianuro de sodio al 5%

Hidróxido de potasio 0.1N

Tetracloruro de carbono.

Solución estándar de triptófano 1 mg/ml. (estándar interno)

Solución estándar de triptófano de 100 Ug/ml. (curva estándar)

Acido clorhídrico concentrado.

Solución de p-dimetil amino benzaldehído al 5% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5%

Nitrito de sodio al 0.2%

#### TECNICA.

Se pesan 1.2 g. de la muestra, por duplicado en matraces aforados de 100 ml. A uno de los matraces se le adiciona 4 ml. de la solución estándar de triptófano de concentración 1 mg/ml. (estándar interno). Posteriormente a cada uno de los matraces se les agrega 10 ml. de solución enzimática de papaína al 2%, 60 ml. de solución buffer de fosfatos 0.4 Molar de pH 7.95 y 0.50 ml. de NaCN al 5%. Se agitan, al mismo tiempo se prepara un blanco de papaína para determinar el triptófano con-

tenido en la solución enzimática y restarlo del que se determina en la muestra.

Los matraces se colocan en una estufa a 58 °C, de 18 a 20 horas; después de que se han enfriado se aforan a 100 ml. con agua destilada, se agitan y se filtran o centrifugan. Del filtrado o sobrenadante se toma una alícuota de 5 ml., se le adiciona 5 ml. de KOH 0.1N y 3 ml. de tetracloruro de carbono; se agita y se centrifuga a 3000 rpm durante 15 minutos (para muestras claras no es necesario).

Para la determinación los pasos a seguir son:

1. Tomar alícuotas de 1 ml. del sobrenadante claro de las muestras por triplicado y colocarlas en tubos de ensaye; dos de los tubos se utilizan para la determinación y el otro será el blanco.
2. Adicionar los siguientes reactivos, 1 ml. de p-dimetil amino benzaldehído y 1 ml. de agua destilada al tubo que se utiliza como blanco.
3. Agregar 5 ml. de ácido clorhídrico concentrado a los 3 tubos y agitarlos.
4. Dejar reposar en la obscuridad 15 minutos.
5. Agregar 0.4 ml. de nitrito de sodio al 0.2% y agitar.

6. Nuevamente dejar reposar en la obscuridad durante 15 minutos para desarrollar el color azul.
7. Hacer la lectura a 590 mU en el fotocolorímetro después de ajustar a 100% de transmitancia con el blanco.
8. El calor es estable cerca de una hora.

Se corre, al mismo tiempo, una curva estándar de triptófano con concentraciones de 10 a 100 Ug/ml. y se prepara un blanco con agua destilada para ajustar el fotocolorímetro a 100% de transmitancia.

Cálculos:

El % de transmitancia se convierte a D.O. La densidad óptica del blanco de la solución enzimática se resta de la densidad óptica del problema. Este valor se extrapola de la curva estándar de triptófano y se obtiene así la cantidad de aminoácido en la muestra en Ug. de triptófano/ml. de muestra a partir del cual se calculan los g. de triptófano/100 g. de muestra.

$$\text{g. triptóf.}/100 \text{ g. proteína} = \frac{(\text{Ug. triptóf. muestra} - \text{Ug. Triptóf. blanco papaína}) \cdot 2}{(\text{peso muestra}) (\% \text{ proteína muestra})}$$

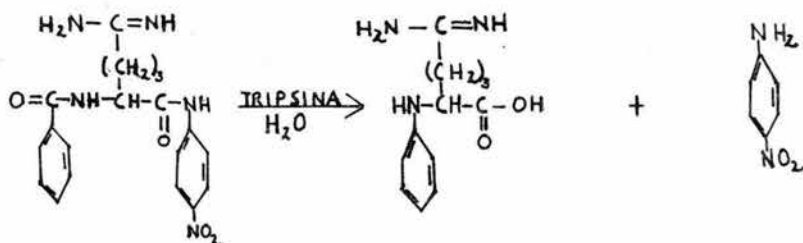
b.3 DETERMINACION DE INHIBIDORES DE TRIPSINA. ✓ SI

La determinación se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Kakade y Col. (41).

## FUNDAMENTO.

Es una determinación "in vitro", la tripsina al estar en contacto con un sustrato sintético en este caso BAPNA (benzoil arginina p-Nitroanilida), lo hidroliza liberando benzoil arginina p-Nitroanilina de color amarillo.

De acuerdo a la siguiente reacción.



Benzoil Arginina.  
p-Nitroanilida (BAPNA).

Benzoil Arginina

p-Nitroanilida  
(amarillo)

Si existen inhibidores de esta enzima en los extractos de estas muestras de frijoles, la inhibición de la tripsina ocasiona que disminuya la cantidad de p-Nitroanilina liberada; por lo tanto la coloración es inversamente proporcional a la concentración del inhibidor de tripsina

presente en los extractos de las diferentes muestras.

#### MATERIAL UTILIZADO.

Matraces aforados de 50 ml.

Pipetas graduadas 2 ml., 5 ml., y 10 ml.

Balanza analítica.

Potenciómetro.

Centrífuga.

Baño maría con agitación y control de temperatura.

Cronómetro.

Agitador Bortex.

Espectrofotómetro marca Coleman.

#### REACTIVOS.

Solución amortiguadora de Tris 0.05 M pH = 8.2

Solución BAPNA (Benzoil Arginina p-Nitroanilida) 3 mM

Solución estándar de Tripsina, 40 microgramos/ml.

Acido acético 30%.

(Estos reativos fueron adquiridos en la casa Sigma Chemical Co.  
St. Louis. Mo. U. S. A.).

#### Preparación de reactivos.

Solución amortiguadora de Tris 0.05 M pH = 8.2. Se pesan 6.05



de Tris (Hidroximetil -aminoetano) y 2.94 g de cloruro de calcio dihidratado ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Se disuelven por separado en agua destilada y se mezclan en un volumen total de 900 ml, se ajusta el pH a 8.2 y se afora la solución a 1000 ml. con agua destilada.

Solución BAPNA 3 milimolar. Se prepara primeramente una solución BAPNA 0.04 Molar, para lo cual se pesan 870 mg de BAPNA y se disuelven en 50 ml. de dimetilsulfóxido. Se debe tener cuidado de que la disolución sea completa, pues de lo contrario los residuos de cristales no disueltos hacen precipitar al reactivo. La solución obtenida se puede guardar en refrigeración para posteriormente obtener la disolución 3 milimolar.

La solución BAPNA 3 milimolar se prepara tomando 3.75 ml. de solución BAPNA 0.04 Molar y aforando a 100 ml con solución amortiguadora de Tris. Esta última solución es la que se usa y se prepara en el momento de ser usada.

Solución estándar de tripsina de 40 microgramos/ml. Se pesan exactamente 4 mg de tripsina (cristalizada 2 veces y libre de sales) y se disuelven en 100 ml. de ácido clorhídrico 0.001 M. Esta solución puede guardarse en refrigeración por 2 o 3 semanas sin pérdida de actividad.

## TECNICA.

Se pesa 1,0 g de muestra molida, se le adicionan 45 ml. de NaOH 0.01 N y se ajusta el pH a 9.6 Se afora a 50 ml. y se agita mecánicamente durante una hora. Transcurrido el tiempo de agitación se centrifuga y se toma una alícuota de 5 ml. del sobrenadante y se afora a 50 ml. con agua destilada. Del extracto obtenido se emplearon alícuotas de 1 ml. para la determinación.

Actividad antitripsina de las muestras.

Para la determinación seguir los pasos que se enumeran a continuación:

1. Tomar alícuotas de 1 ml de cada uno de los extractos de las muestras por triplicado y colocarlas en tubos de ensaye.
2. Adicionar 1 ml. de solución estándar de tripsina a todos los tubos.
3. Colocar los tubos en un baño de agua 37 °C.
4. Agregar 1 ml. de ácido acético 30% a uno de los 3 tubos de cada muestra, que servirá como blanco correspondiente.
5. Dejar reposar 5 minutos para estabilizar la temperatura.
6. Agregar 2 ml. de solución BAPNA 3 mM a todos los tubos.
7. Nuevamente dejar reposar 15 minutos para que se lleve a cabo la reacción.

8. Agregar 1 ml. de ácido acético al 30% a los tubos que no tienen, para detener la reacción.
9. Sacar los tubos del baño y agitar.
10. Hacer la lectura a 420 nm.

Al mismo tiempo de la determinación se corrió una curva estándar de tripsina como se describe a continuación.

1. Se toman alícuotas de 0.2 ml., 0.4 ml, 0.6 ml, 0.8 ml y 1.0 ml, de solución estándar de tripsina, pipeteadas por triplicado en tubos de ensaye.
2. Se le adiciona la cantidad de agua destilada necesaria a to dos los tubos, para obtener un volumen de 2 ml.
3. Se siguen los mismos pasos (a partir del número 3) usados en la determinación de la muestra.

#### Expresión de la Actividad.

La actividad antitripsina puede expresarse en dos diferentes formas:

- a). Los resultados de los problemas se leen directamente en la curva estándar y se reporta como miligramos de tripsina inhibida por gramo de muestra.
- b). La actividad antritripsina se define también como el número de Unidades de Tripsina Inhibidas (UTI).

Una unidad de tripsina se define arbitrariamente como el aumento de 0.01 unidades de densidad óptica (D.O.) que se absorben a 420 na nómetros (41).

Las UTI/mg de muestra se obtienen restando la densidad óptica de cada problema a la densidad óptica del último punto de la curva estándar, equivalente a 1 ml. de solución estándar de tripsina. Posteriormente se hace la relación con 1 UT = 0.01 unidades de densidad óptica.

$$UTI = \frac{(D.O. \text{ de } 40 \text{ } \mu\text{g.} - D. O. \text{ Problema})}{0.020}$$

#### b.4 DETERMINACION DE HEMAGLUTININAS. ✓

La determinación se hizo de acuerdo al método descrito por Jaffé y Col. (42).

#### FUNDAMENTO.

Esta es una prueba semicuantitativa que se basa en la propiedad que tienen los extractos de los frijoles de aglutinar los diferentes tipos de eritrocitos.

#### MATERIAL UTILIZADO.

Sangre de vaca.

Sangre humana.

Sangre de conejo.

Aparato de Micro-Titer (Cook Eng. Alexander Virginia U.S.A.)

#### REACTIVOS.

Solución salina al 1.0%

Solución de tripsina 0.1% (Sigma Co. St. Louis Mo. U.S.A.)

#### Preparación de los extractos de las semillas.

Se suspende un gramo de muestra molida en 10 ml. de solución salina 1.0%, se agitan mecánicamente por 2 horas si las muestras son crudas y 3 horas si son cocidas, transcurrido este tiempo se centrifugan o se filtran para separar el sobrenadante que se utiliza en las determinaciones. La concentración del extracto final es de 100 mg/ml.

#### Preparación de los eritrocitos para las pruebas de aglutinación.

La sangre se lava más o menos con la misma cantidad de solución salina 0.85% por tres veces. Una vez lavada se diluye al 4% (por cada ml. de glóbulos rojos se añaden 14 ml. de NaCl 0.85%).

#### Activación de los glóbulos rojos con tripsina.

A cada 9 ml. de la suspensión de los glóbulos rojos al 4% se le agrega 1 ml. de la solución de tripsina 0.1%, se dejan en contacto a 37 °C en una estufa por una hora. Se centrifuga para eliminar el sobrenadante,

se lava tres veces con la solución salina 0.85% y se lleva al volumen inicial (o un poco menos).

La sangre tratada con tripsina dura cuando menos 3 o 4 días en refrigerador.

#### METODO.

Un volumen de 0.05 ml. del extracto final se diluyó sucesivamente con la solución salina en un equipo Micro-Titer (Cook Eng. Com. Alexander Virginia U.S.A.) agregando posteriormente sobre cada una de estas diluciones un volumen 0.05 ml. de suspensión de eritrocitos. La lectura se realizó después de media hora de la adición de los eritrocitos, considerandose positiva la dilución en que la aglutinación era evidente a simple vista.

#### b.5. DIGESTIBILIDAD "in Vitro". XNO

Esta determinación se realizó de acuerdo a la técnica de Akesson y Col. (43).

#### FUNDAMENTO.

Efectuar la digestibilidad empleando pepsina y enzimas pancreáticas (pancreatina) determinando el nitrógeno equivalente al material digerido.

## MATERIAL UTILIZADO.

Matraces aforados de 50 ml.

Pipetas de 5 y 10 ml.

Tubos de 75 ml. para la digestión.

Balanza analítica.

Baño maría con agitador y control de la temperatura.

Aparato micro-kjeldahl. Digestor TECATOR.

## REACTIVOS.

Solución de pepsina merck al 0.3%

Solución de pancreatina merck al 0.4%

Hidróxido de sodio 0.1N

Acido clorhídrico 0.1N

Merthiolate 1:1000 en solución alcohólica.

Buffer de fosfatos pH 8.0

Acido tricloroacético al 30%

Sulfato de potasio.

Acido sulfúrico.

Acido clorhídrico 0.01N.

## METODO.

1. Pesar 500 mg de la sustancia a analizar en matraces volumétricos de 50 ml. (por duplicado).

2. Añadir 10 ml. de una solución de pepsina 0.3% en HCl 0.1N, incubar a temperatura ambiente 25 °C durante tres horas con agitación continúa.
3. Añadir 10 ml. de NaOH 0.1N.
4. Añadir 10 ml. de solución de pancreatina 0.4% en buffer de fosfatos pH 8.0 y 0.1 ml. de merthiolate 1:1000 en solución alcohólica, incubar a temperatura ambiente con agitación por 24 horas.
5. Añadir agitando, 10 ml. de ácido tricloroacético al 30%
6. Llevar con agua destilada a 50 ml.
7. Centrifugar una alícuota por 30 minutos a 3000 rpm.
8. Pipetear 5 ml. del sobrenadante en un frasco Kjeldahl de 50 ml.
9. Añadir la punta de una espátula de  $K_2SO_4$  y 1 ml de  $H_2SO_4$  concentrado para digerir la muestra en un aparato micro-digestor Kjeldahl.
10. Destilación según Kjeldahl, después de la adición de 10 ml, de ácido bórico al 2%.
11. Titular con HCl 0.01N. En todas las determinaciones se debe preparar un control de caseína y un blanco que se resta a las muestras.

Nota: El método se puede interrumpir después de agregar el  $H_2SO_4$  para la digestión.



## CALCULOS.

$$\% \text{ de nitrógeno digerido} = \frac{\text{Vol de HCl} \times 0.0014 \times 50 \times 100}{\text{peso de la muestra} \times 5}$$

$$\% \text{ de Digestibilidad} = (\% \text{ de nitrógeno digerido} / \% \text{ de N en muestra}) \times 100$$

b.6 EVALUACION DE LA CALIDAD DE LAS PROTEINAS (8).

## METODO QUIMICO.

Uno de los principales métodos químicos para evaluar la calidad proteica se refiere al cálculo de cómputo o calificación, el cual permite la predicción del valor nutritivo de proteínas de diferentes fuentes. Este método consiste en determinar el contenido de aminoácidos de la proteína problema y compararlo con el de una proteína patrón como referencia, en este caso la proteína del huevo completo. Se relaciona la cantidad de aminoácidos de la proteína a evaluar con la cantidad de aminoácidos de la proteína patrón que corresponde a 100 de calificación química. Se considera que aquel aminoácido componente de la proteína que de menor porcentaje será considerado como aminoácido limitante.

Análisis cuantitativo de aminoácidos de las Proteínas. (44).

## FUNDAMENTO.

La separación de aminoácidos para su cuantificación usando la cromatografía en columna, es un método muy simplificado ya que se rea-

liza en un autoanalizador.

La determinación del contenido de aminoácidos en las proteínas de las muestras consiste básicamente en:

1. Hidrólisis ácida de la muestra con ácido clorhídrico 6N
2. Separación de los aminoácidos en la columna de resinas sintéticas de intercambio iónico, usando buffer como eluyente.
3. La determinación colorimétrica del complejo colorido formado al reaccionar el aminoácido con el reactivo de ninhidrina. La medida de la intensidad del color que se grafica por un registrador automático sobre un papel. A esta gráfica se le llama aminograma.

#### MATERIAL UTILIZADO.

Tubos con tapón de rosca.

Matraces aforados de 25 ml.

Embudos.

Balanza analítica.

Parrilla eléctrica.

Baño de aceite.

Termómetro.

Rotavapor Marca BUCHI.

Autoanalizador marca TECHNICON.

## REACTIVOS.

Acido clorhídrico 6N

Solución buffer pH 1.5

Buffer # 1 pH 4.05

Buffer # 2 pH 4.10

Buffer # 3 pH 5.40

Ninhidrina al 1%

Metil celosolve.

Sulfato de hidrazina 2 Milimolar.

NaOH 0.2N.

Las soluciones buffer se preparan siguiendo la técnica descrita en el manual del autoanalizador.

Preparación de Buffer para el autoanalizador.

Reactivos y Soluciones.	Buffer # 1 pH 4.05 regenerador de la columna.	Buffer # 2 pH 4.10 para ácidos y neutros.	Buffer # 3 pH 5.40 para básicos
1. Acetato de sodio anhidro $\text{CH}_3\text{COONa}$ PM 82.03	4.1 g	4.1 g	73.8 g
2. Acido acético glacial.	11.8 ml	11.8 ml.	18.5 ml.

3. Acetato de zinc. $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ solución 0.5 M 110g/litro.	----	0.6 ml.	2.0 ml
4. Alcohol etílico $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ (abs.) P.M. 46.07	78.0 ml.	78.0 ml.	-----
5. Alcohol Benzílico $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}$ (G.R.) P.M. 108.14	----	-----	11.0 ml
6. Hidroquinona (merck) (art. 4610)	0.11 g	0.11 g	-----
7. Solución de BRIJ-35 (20%)	4.0 ml.	4.0 ml.	4.0 ml.
8. EDTA (sal disódica). $2\text{H}_2\text{O}$ P.M. 372.25 Mallinckrodt	0.1 g	-----	-----
9. Acido caprílico P.M. 144.22 $\text{H}_2\text{O}$ destilada y desionizada Ajustar pH	0.1 ml.  c.b.p. 1 litro 4.05 ± 0.02	0.1 ml.  c.b.p. 1 litro 4.10 ± 0.02	0.1 ml.  c.b.p. 1 litro 5.40 ± 0.02

En 1/2 litro de agua destilada y desionizada se disuelve el acetato de sodio, añadir hasta el reactivo # 8 y luego calentar por 15 minutos con agitación. Transcurrido este tiempo se enfría para ajustar el pH con aproximadamente ± 0.02 unidades. Una vez ajustado el pH, se afora el volumen indicado con la ayuda del reactivo # 9 y agua destilada (desio-

nizada).

Ninhidrina al 1.0%

Ninhidrina	10 g.
Metil celosolve	500 ml.
Buffer de Acetato de sodio $4N^-$	250 ml.
Agua destilada y desionizada hasta.	1000 ml.

- a). En un vaso de un litro disolver la ninhidrina en metil celosolve con agitación.
- b). Adicionar el Buffer de acetato de sodio lentamente.
- c). Llevar a un volumen de 1 litro con agua destilada y desionizada en un matraz volumétrico.
- d). Pasarla a un frasco de reactivo y burbujearle nitrógeno.

Nota: prepararla 24 horas antes de usarse.

Metil celosolve al 50%

Metil celosolve	500 ml.
Agua destilada y desionizada.	500 ml.

Solución de sulfato de hidrazina 2 mM.

Sulfato de Hidrazina	0.262 g
----------------------	---------

Agua destilada y desio-	
nizada	992.5 ml.
Brij-35 al 20%	7.5 ml.

- a.- Disolver el sulfato de hidrazina en agua con agitación y luego el Brij-35 al 20%
- b.- Adicionar una gota de ácido sulfúrico concentrado por cada litro (para acidular la solución).

NaOH 0.020 N.

NaOH 2.0N	100 ml.
Agua desio-	
nizada hasta	1000 ml.

#### TECNICA.

En los tubos con tapón de rosca se coloca una muestra que contenga 0.05 g de protefna y se le añade 4ml. de ácido clorhídrico. Se colocan los tubos en un baño de aceite a una temperatura de 110°C de 18 a 24 horas a reflujo.

Transcurrido ese tiempo, se retira el tubo que contiene el hidrolizado del baño y se procede a evaporarlo a sequedad para eliminar el exceso de ácido, 2 veces más se le agrega agua desionizada caliente, evaporando a sequedad cada vez en el rotavapor y por último se agrega agua desionizada caliente y se evapora pero no a sequedad.

Después se filtra y se afora a un volumen de 25 ml. con agua desiou

nizada, de este volumen se toma un mililitro que se coloca en un tubo de ensaye y al cual se le añade 1 ml. de buffer pH 1.5 se agita y de esta solución se toma 0.1 ml. para inyectarse en el autoanalizador.

## RESULTADOS.

Se reporta como g de aminoácidos/16 g de nitrógeno.

### b.7 PRUEBAS BIOLÓGICAS. (45) (46).

Se realizaron pruebas biológicas para determinar el grado de toxicidad de las muestras estudiadas.

Solo se incluyen 4 variedades de estos frijoles por representar los extremos en toxicidad, esto de acuerdo con resultados de las pruebas realizadas "in vitro" o sea contenido de inhibidores de tripsina y de hemaglutinas.

Se realizaron tres tipos de experimentos:

En el primer experimento tenía como fin estudiar el efecto de las ingestas de los cuatro tipos de frijol proporcionados a los animales de experimentación en forma cruda.

El segundo experimento fué con dietas preparadas con frijol crudo molido y casitone ( caseína digerida ) al 10%, tenía como fin suplementar la dieta con una proteína de buena calidad adicionada además de metionina para conocer el efecto causado en los animales exclusivamente por tóxicos.

El tercer experimento tenía por finalidad explorar la destrucción por el calor de los tóxicos presentes en los frijoles preparados en una dieta semejante al experimento # 2.

#### MATERIAL EMPLEADO.

Balanza granataria.

Balanza granataria para ratas.

Rack de jaulas con fondo de tela metálica y comederos.

Bebederos

#### Componentes de la dieta.

Sacarosa

Glucosa

Peptona-caseína

Dextrina

Manteca vegetal ( inca )

Aceite vegetal ( mazola)

Mezcla de sales Roger Harper (Nutritional Biochemical)

Mezcla de vitaminas ( Nutritional Biochemical )

Celulosa.

#### METODO.

Se estudiaron cuatro variedades de frijol ( ivés, patashete, patashte y escumite ).



Estos frijoles fueron molidos en un molino wiley de laboratorio. Este material se dividió en dos partes, una sirvió para el estudio con frijoles - crudos y la otra parte de esa harina fué sometida a un tratamiento térmico-húmedo. Se remojaron primero con agua, la proporción medio-harina fué de -- 3 : 1 ya remojados se someten a cocción en autoclave por 20 minutos a 118°C. El producto se seco posteriormente en una estufa a temperatura de 80°C y se molio nuevamente.

La toxicidad se estudio en ratas wistar recién destetadas de 21 a 23 días de edad.

El día que se inicio el experimento se pesaron las ratas con el fin de lograr su mejor distribución y formar lotes lo más uniforme posible en peso. Se utilizaron lotes de 6 ratas para cada serie de dietas, todas del mismo sexo (hembras) mantenidas en jaulas individuales con fondo de tela metálica, se les dió agua y alimento "ad libitum"; como comparación se incluyo en la serie de dietas una a base de peptona caseína al 20% , se les deja un día en ayunas para que los datos obtenidos fueran más confiables.

La duración de los experimentos fué de 2 semanas, se registro el consumo de la dieta diariamente, las ratas fueron pesadas 2 veces por semana -- con el fin de conocer el peso ganado. Para la determinación de la digestibilidad se recolectaron diariamente las heces durante los últimos 7 días y se secaron en estufa a 80°C.

Para medir la absorción intestinal de nitrógeno se calculo la ingesta y la excreción fecal estimados por el análisis de las cantidades ingeridas y excretadas usando el método de Kjeldahl.

El último día se sacrificaron las ratas separando el hígado, sometiéndose luego al análisis de nitrógeno, con los datos obtenidos se determinó el nitrógeno retenido. Se hicieron determinaciones de NPU y de PER modificados bajo las condiciones de una dieta adicionada de caseína hidrolizada para conocer el efecto de los tóxicos en el aprovechamiento de la proteína (casitone).

Composición de las dietas.

DIETA DE CASITONE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Peptona caseína	28,57
Sacarosa	20,10
Glucosa	19,00
Dextrinas	0,00
Manteca vegetal	10,00
Aceite vegetal	10,43
Mezcla de sales	4,00
Mezcla de vitaminas	2,00
Celulosa	5,90
Metionina	0,30

En esta dieta el nivel de protefna es de 20 g por 100 g de dieta y 420.27 calorfas/100 g de dieta.

En el primer experimento se utilizaron dietas a base de frijol crudo:

DIETA DE FRIJOL PATASHTÉ

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Patashte	89.47
Sacarosa	1.66
Glucosa	0.00
Dextrina	0.00
Manteca vegetal	0.00
Aceite vegetal	3.56
Mezcla de sales	1.31
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00

En esta dieta el nivel de protefna es de 17 g por 100 g de dieta y 329.12 calorfas/100g de dieta.

DIETA DE FRIJOL ESCUMITE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Escumite	94.42
Sacarosa	0.32
Glucosa	0.00
Dextrina	0.00
Manteca vegetal	0.00

Aceite vegetal	1.00
Mezcla de sales	2.26
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g por 100 g de dieta y 330.0 calorías/100 g de dieta.

#### DIETA DE FRIJOL PATASHETE

<u>Componentes</u>	<u>%</u>
Patashete	90.95
Sacarosa	2.33
Glucosa	0.00
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	0.00
Aceite vegetal	3.50
Mezcla de sales	1.22
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 330.83 calorías/100g. de dieta.

#### DIETA DEL FRIJOL IVES

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Ives	86.31
Sacarosa	6.6

Glucosa	0.00
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	0.00
Aceite vegetal	2.23
Mezcla de sales	0.86
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00

En esta dieta el nivel de protefna es de 20 g. por 100 g. de dieta y 330.70 calorías/100 g. de dieta.

Segundo experimento.

Dietas preparadas con frijol crudo, peptona casefna y suplementadas con metionina al 0.3%.

#### DIETA DE FRIJOL PATASTHE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Patasthe	52.62
Peptona casefna	14.28
Sacarosa	11.11
Glucosa	0.00
Manteca vegetal	8.00
Aceite vegetal	9.57
Mezcla de sales	2.42
Mezcla de vitaminas	2.00

Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 421.9 calorías/100 g. de dieta.

#### DIETA DE FRIJOL ESCUMITE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Escumite	47.21
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	16.28
Glucosa	0.00
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	8.00
Aceite vegetal	9.91
Mezclas de sales	2.14
Mezclas de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 422.99 calorías/100 g. de dieta.

#### DIETA DE FRIJOL PATASHETE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Patashete	45.47
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	17.10

Glucosa	0.00
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	9.00
Aceite vegetal	9.54
Mezclas de sales	2.61
Mezclas de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 420.22 calorías por 100 g. de dieta.

#### DIETA DE FRIJOL IVES

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Ives	43.15
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	19.10
Glucosa	0.00
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	9.04
Aceite vegetal	10.00
Mezcla de sales	2.43
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30



En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g por 100 g. de dieta y 421.2 calorías/100 g. de dieta.

Tercer experimento.

Dietas preparadas con frijol cocido en autoclave a 118°C por 20 minutos, -  
peptona caseína y metionina al 0.3% .

DIETA DE FRIJOL PATASHTTE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Patashte	52.62
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	11.11
Glucosa	0.00
Manteca vegetal	8.00
Aceite vegetal	9.57
Mezcla de sales	2.42
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 421.9 calorías/ 100 g. de dieta.

DIETA DE FRIJOL ESCUMITE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Escumite	47.21
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	19.46



Glucosa	0.00
Manteca vegetal	8.00
Aceite vegetal	6.91
Mezcla de sales	2.14
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

#### DIETA DE FRIJOL IVES

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Ives	43.15
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	20.10
Glucosa	1.04
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	8.00
Aceite vegetal	9.00
Mezcla de sales	2.43
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta de 421.2 calorías/100 g. de dieta.

## DIETA DE FRIJOL PATASHETE

<u>Componente</u>	<u>%</u>
Patashete	45.47
Peptona caseína	14.28
Sacarosa	17.10
Dextrinas	0.00
Manteca vegetal	9.00
Aceite vegetal	9.54
Mezcla de sales	2.61
Mezcla de vitaminas	2.00
Celulosa	0.00
Metionina	0.30

En esta dieta el nivel de proteína es de 20 g. por 100 g. de dieta y 420.22 calorías/100 g. de dieta.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro IV-1 se muestra el análisis aproximado de las muestras estudiadas y se puede observar que la composición de los 7 frijoles -- estudiados es muy semejante. Sólo puede hacerse notar que el frijol patashte es el que muestra el más bajo contenido de proteína (21.07%) y el frijol ivés, el que tiene mayor contenido.

En el cuadro IV-2, se muestran los resultados obtenidos en la composición de aminoácidos de los 7 frijoles estudiados y en el cuadro IV-3 se --- puede ver la calificación química de cada uno de los frijoles; en general, se - puede observar que la lisina, un aminoácido importante, se encuentra en alta - proporción en todos los frijoles. La proporción de este aminoácido es mayor que el patrón en todos los casos; lo mismo se puede decir de leucina, isoleu - cina, treonina y del total de aromáticos; en cambio, el contenido de triptófano es variado en los 7 frijoles, la concentración de este aminoácido en la proteí - na de los frijoles colón, negro de vara, botil, ives y patashte es mayor que el patrón, siendo el último el que muestra el valor más alto, en cambio los dos frijoles restantes tienen alrededor de la mitad del patrón. Como era de esperarse el total de azufrados en todas las muestras fue bajo, siendo el fri - jol colón el que menor contenido muestra.

La valina y la tirosina se encuentran también en cantidades variables y la concentración de los 2 aminoácidos es menor que el patrón.

Se debe hacer notar que el frijol patashete tiene la cuenta química más alta de los siete y es el de mayor consumo en la región.

En seguida se analizan los resultados obtenidos del contenido de -- tóxicos presentes en los frijoles crudos y cocidos.

Dichos resultados se muestran en los cuadros IV-4, IV-5 y en las figuras IV-2 y IV-3. En el cuadro IV-4 se muestra el contenido de inhibidores de tripsina en las muestras crudas y cocidas y el % de destrucción - después del tratamiento térmico, se puede observar la variabilidad en el con-- tenido de los mismos; el frijol negro de vara y el patashte presentan el más bajo contenido de los mismos, mientras que el patashete, ivés y botil tienen tres veces más Unidades de Tripsina Inhibida (UTI) que los anteriores.

Después del tratamiento térmico se encontró que el frijol escumite - conserva más del 50% del contenido de inhibidores de tripsina en tanto que - el ivés y el patashte tuvieron una destrucción de más del 75% de estos tóxicos; otros autores Liener ( 19 ) lograron la destrucción total de los inhibidores de tripsina de los frijoles cuando los dejaban en remojo toda la noche antes de -- ser calentados en autoclave.

En el cuadro IV-5 se muestra el contenido de hemaglutininas en los - frijoles estudiados crudos y cocidos; es interesante notar que todos los frijoles estudiados aglutinan sangre de vaca a altas diluciones en forma cruda y que -- esta característica ha sido tomada en cuenta para clasificar a los frijoles co -

mo de muy tóxicos; sin embargo, después del tratamiento térmico solamente los frijoles escumite e ivés siguieron dando respuesta positiva a la prueba de aglutinación de eritrocitos; en el caso específico de escumite, la actividad hemaglutinante en sangre de vaca y humana se redujo a la mitad, en cambio en los frijoles patashte, patashete, botil, frijol de vara y frijol colón, la destrucción de las hemaglutininas fué total ya que no mostraron aglutinación frente a las tres diferentes sangres.

#### PRUEBAS BIOLÓGICAS.

Resultados del primer experimento.

Se observa una gran pérdida de peso y un alto índice de mortalidad en las ratas que consumieron dietas preparadas con los frijoles escumite, ivés y patashete en forma cruda.

En el caso específico del frijol escumite en los dos primeros días -- del experimento se produjo el 50% de mortalidad y el cuarto día un 100% de mortalidad.

Frijol ivés.- Por lo que se refiere a este frijol, se produjo la muerte de las ratas al quinto día de que se había iniciado el experimento con un 80% de mortalidad, la última rata de este lote murió el séptimo día.

Frijol Patashete.- Con la dieta de este frijol no sobrevivió ningún animal después del cuarto día, el índice de mortalidad fué de 100%.

Por lo que respecta al frijol patashte se puede notar que las ratas lo

graron sobrevivir hasta 8 días, y una de las ratas de ese lote vivió hasta el último día del experimento.

Observando los resultados del índice de mortalidad presentados en el cuadro IV-6 podemos clasificar a estos frijoles de acuerdo a su toxicidad en:

Muy tóxicos: Los frijoles Escumite, Patashete e Ivés.

Poco tóxicos: Frijol Patashte.

Hay que hacer notar que los tres frijoles presentan mayor actividad hemaglutinante con los tres tipos de eritrocitos y por lo que respecta al contenido de inhibidor de tripsina, los frijoles patashete e ivés presentan alta -- concentración de este inhibidor.

Sin embargo, debemos considerar que posiblemente la mortalidad de las ratas no se deba sólo al efecto tóxico sino también a la deficiencia de aminoácidos que presentan esto frijoles principalmente los azufrados y a la pobre digestibilidad de los mismos.

Segundo experimento.

En este caso se adiciono casitone al 10% (caseña hidrolizada) a las dietas para suplir cualquier deficiencia de aminoácidos en los frijoles con el propósito de detectar únicamente el efecto tóxico.

Las ratas a las que se les dió dietas a base de frijoles patashete, -- ivés y escumite crudo suplementadas con casitone no tuvieron un buen crecimiento y no pudieron sobrevivir las 2 semanas del experimento, en cambio las

que consumieron la dieta de frijol patashte si sobrevivieron las 2 semanas que duró el experimento.

Con lo anterior se puede afirmar que los frijoles escumite, patashete e ivés son los más tóxicos en forma cruda, mientras que el frijol patashte -- es el menos tóxico.

En el tercer experimento se emplea el frijol cocido y adicionado de casitone y metionina se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en el cuadro IV-7. Como se puede observar, el frijol patashete fué el dió - los valores de PER y NPU más alto, ésto va de acuerdo con el contenido de tóxicos presentes en los frijoles estudiados y el grado de destrucción de ellos por calentamiento, puesto que en esta prueba se descartó el efecto que puede tener la calidad de la proteína por la adición del casitone y la metionina.

#### DIGESTIBILIDAD "in Vitro" e "in Vivo"

En el cuadro IV-8 y en la figura IV-4 se muestran los resultados obtenidos de la digestibilidad realizada por los dos métodos descritos, en primer lugar se puede observar que no hay correlación entre las digestibilidades "in vivo" e "in vitro" y esto puede atribuirse a la presencia de los tóxicos que - sñ influyen cuando se hace la digestibilidad "in vivo". Se puede observar que el escumite que tenía las más alta digestibilidad "in vitro" muestra el más ba - jo valor "in vivo", posiblemente porque en esta última situación esté influyen - do de manera significativa en el aprovechamiento de los aminoácidos la pre -

sencia de los tóxicos remanentes que se encontraron en más alta concentración en este frijol.



## CUADRO IV - 1

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LAS MUESTRAS ESTUDIADAS  
( gramos / 100 gramos de muestra )

MUESTRAS	HUMEDAD	CENIZAS	PROTEINAS	GRASA	FIBRA CRUDA	CARBOHIDRATOS
F. Escumite	10.16	4.39	23.57	2.57	6.82	62.63
F. Botil	12.44	4.06	23.37	1.94	6.72	63.88
F. Ivés	13.79	4.22	26.87	1.19	7.55	60.11
F. Patashete	13.88	3.55	25.53	1.85	6.17	62.87
F. Patashte	9.38	3.34	21.07	3.02	5.98	62.94
F. Colón	12.54	3.56	25.25	1.86	8.51	60.72
F. de Vara	12.84	3.91	22.96	1.67	7.07	64.39
Promedio	12.14	3.86	24.08	2.01	6.97	62.51

CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LAS MUESTRAS ESTUDIADAS  
( gramos de aminoácido/16 g. de N )

Aminoácidos	F. Escumite	F. Botil	F. Ivés	F. Patashete	F. Patashte	F. Colón	F. de Vara	Huevo completo
Isoleucina	4.0	3.2	3.5	2.4	3.3	3.0	3.6	6.6
Leucina	5.4	5.0	6.3	6.9	7.1	4.7	6.4	8.8
Lisina	4.7	4.4	5.4	6.0	6.4	4.3	5.0	6.4
Total de Aromáticos	4.3	6.1	5.9	5.7	5.8	5.7	8.1	10.0
Fenilalanina	3.2	4.1	4.6	3.0	3.3	4.0	6.0	5.8
Tirosina	1.1	2.0	1.3	2.7	2.5	1.7	2.1	4.2
Total de								
Azufrados	1.3	1.5	1.3	1.3	1.3	0.7	1.0	5.5
Cisteína	0.6	0.5	0.6	0.6	0.5	0.1	0.2	2.4
Metionina	0.7	1.0	0.7	0.7	0.9	0.6	0.8	3.1
Treonina	3.2	2.7	3.5	5.4	4.1	2.3	3.8	5.1
Triptófano	0.53	0.92	0.96	0.65	1.8	1.0	1.2	1.6
Valina	3.6	2.2	3.4	4.7	3.7	2.6	3.6	7.3
Total de								
Esenciales	27.03	26.02	30.26	40.05	33.80	24.30	32.70	51.3
Ac. Aspártico	6.8	5.5	6.5	3.8	5.7	4.6	7.4	
Ac. Glutámico	5.0	8.9	10.4	6.9	7.0	3.0	12.0	
Glicina - Alanina	3.2	2.7	3.2	7.0	8.5	2.8	4.4	
Prolina	8.6	4.5	5.5	1.2	1.0	4.9	6.6	
Hidroxiprolina	1.4	1.3	1.0	0.1	0.1	0.6	2.6	
Serina	4.2	3.3	5.0	3.9	5.1	3.2	11.1	
Arginina	4.6	3.7	4.0	2.8	2.9	4.5	11.9	
Amónfaco (NH <sub>4</sub> )	0.5	0.5	0.8	0.6	0.6	0.6	1.5	

CUADRO IV - 3  
CALIFICACION QUIMICA DE LOS 7 FRIJOLES ESTUDIADOS .

Aminoácidos	F. Escumite	F. Botil	F. Ivés	F. Patashete	F. Patashte	F. Colón	F. de Vara
Isoleucina	114.86	98.58	89.91	** 46.58	76.55	95.74	85.57
Leucina	113.13	112.02	121.37	100.47	123.13	112.52	114.09
Lisina	139.40	135.55	143.08	120.13	151.98	141.56	122.57
Total de Aromáticos	81.61	120.26	100.03	73.01	88.80	120.08	127.07
Fenilalanina	104.73	139.40	134.47	66.28	87.68	145.33	162.35
Tirosina	**49.68	93.84	**52.45	82.30	90.35	85.23	78.39
Total de Azufrados	*44.86	*53.77	*40.10	*30.31	*38.06	*26.76	*28.54
Cistefna	47.51	41.13	42.44	32.12	30.41	6.78	13.06
Metionina	42.86	63.62	38.29	28.97	44.07	24.78	40.56
Treonina	119.10	104.39	116.35	136.35	123.53	95.06	116.89
Triptófano	62.86	113.53	101.73	51.96	175.43	138.32	117.70
Valina	93.60	**59.41	78.98	82.50	76.81	75.03	77.37

1er aminoácido \*  
limitante.

2do aminoácido \*\*  
limitante.

CUADRO IV - 4  
INHIBIDORES DE TRIPSINA EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS .

MUESTRAS	CRUDAS UTI/mg. muestra	COCIDAS UTI/mg. de muestra	% Destrucción por cocción
F. Escumite	14.28	8.37	41.38
F. Botil	23.08	1.68	92.72
F. Ivés	21.82	4.60	79.91
F. Patashete	21.48	10.85	49.48
F. Patashte	9.00	0.66	92.61
F. Colón	12.82	1.80	85.95
F. de Vara	8.94	2.32	74.05

CUADRO IV - 5

CONTENIDO DE HEMAGLUTININAS DE LAS MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS

(Dilución máxima a la que aún aglutinan)

MUESTRAS	Muestras Crudas			Muestras Cocidas		
	Sangre humana	Sangre de vaca	Sangre de conejo	Sangre humana	Sangre de vaca	Sangre de conejo
F. Escumite	9	8	11	4	4	3
F. Botil	10	10	10	0	0	0
F. Ivés	10	9	10	2	3	2
F. Patashete	10	9	8	0	0	0
F. Patashte	9	3	3	0	0	0
F. Colón	3	2	4	0	0	0
F. de Vara	10	9	10	0	0	0

El número representa las veces que se diluyó.

CUADRO IV - 6  
MORTALIDAD POR CONSUMO DE FRIJOL CRUDO

DIAS DE SOBREVIVENCIA	2	4	6	8	10
F. Escumite	3/6	3/6			
F. Patashete		6/6			
F. Ivés			5/6	1/6	
F. Patashte				5/6	

CUADRO IV - 7  
 RESULTADOS DE LA RELACION DE EFICIENCIA PROTEICA ( REP )  
 Y LA UTILIZACION NETA DE PROTEINAS ( UNP )

MUESTRAS	REP ( $\bar{x} \pm$ DE )	UNP ( $\bar{x} \pm$ DE )
F. Patashte, crudo	1.64 $\pm$ 0.41	60.51 $\pm$ 2.82
F. Escumite, cocido	2.33 $\pm$ 0.35	73.22 $\pm$ 2.91
F. Patashete, cocido	2.61 $\pm$ 0.27	75.13 $\pm$ 4.82
F. Ivés, cocido	2.47 $\pm$ 0.19	72.21 $\pm$ 3.36
F. Patashte, cocido	2.36 $\pm$ 0.25	69.57 $\pm$ 3.15

CUADRO IV - 8  
DIGESTIBILIDAD "IN VITRO" E "IN VIVO"

MUESTRAS	IN VITRO		IN VIVO
	Crudas	Cocidas	Cocidas
F. Escumite	66.41	95.29	72.31
F. Botil	64.98	74.76	- -
F. Ivés	51.41	89.59	71.50
F. Patashete	58.68	70.22	76.12
F. Patashte	63.81	82.88	76.00
F. Colón	78.29	83.84	- -
F. de Vara	67.02	83.43	- -



FIGURA IV-1

CONTENIDO DE PROTEINAS EN LAS  
MUESTRAS ESTUDIADAS

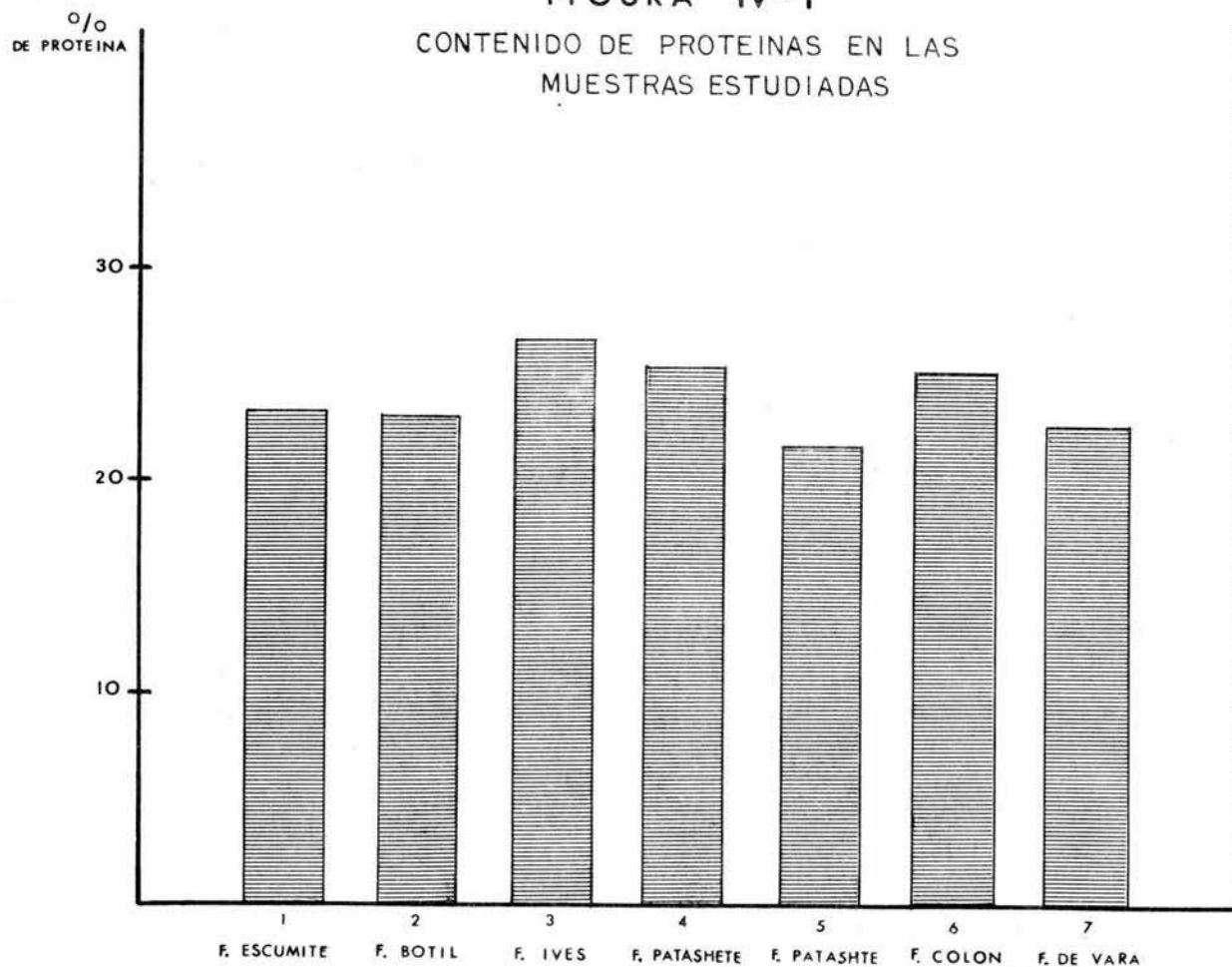


FIGURA IV-2

CONTENIDO DE INHIBIDORES DE TRIPSINA  
EN MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS

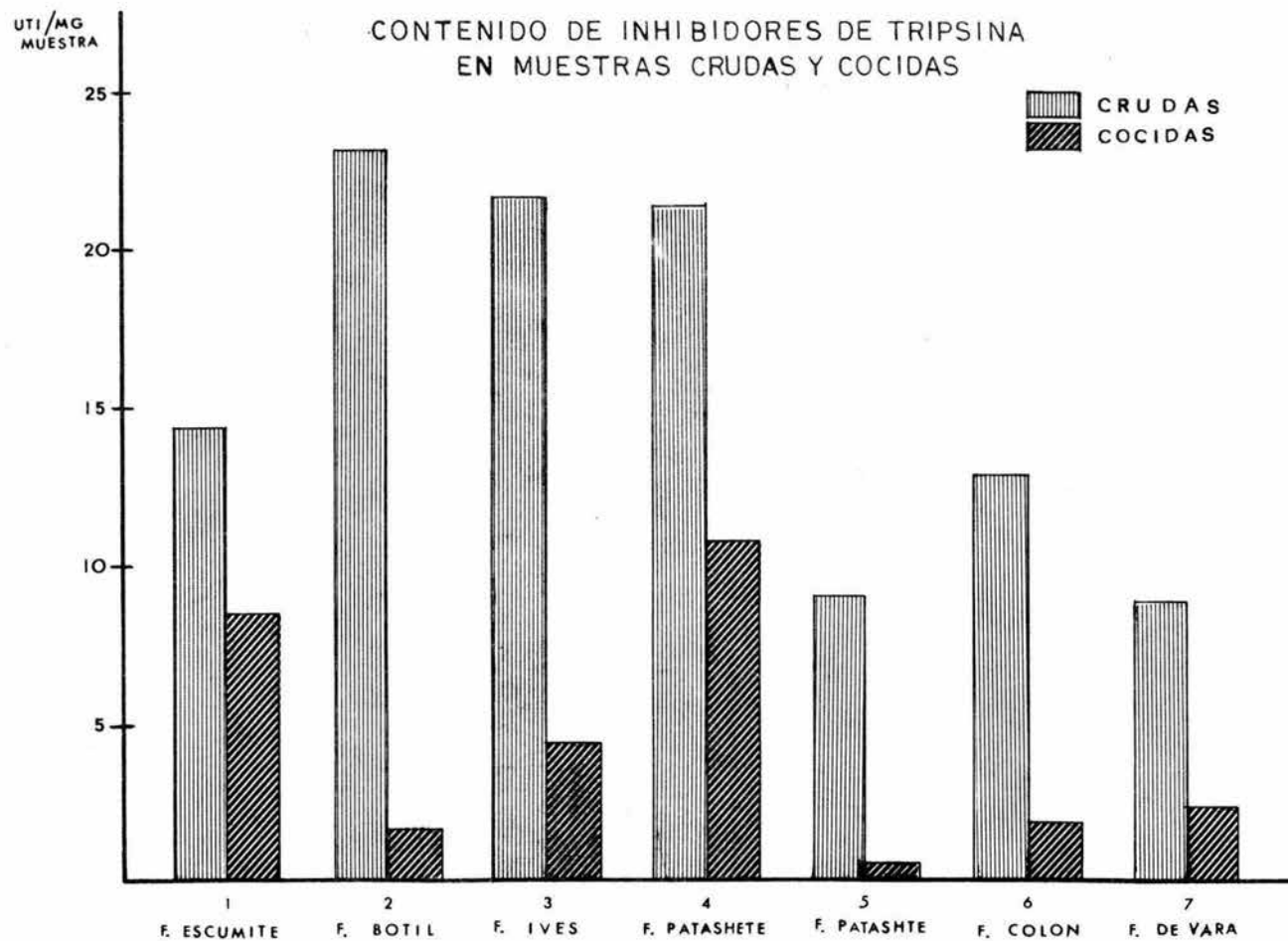


FIGURA IV-3

CONTENIDO DE HEMAGLUTININAS EN  
LAS MUESTRAS CRUDAS

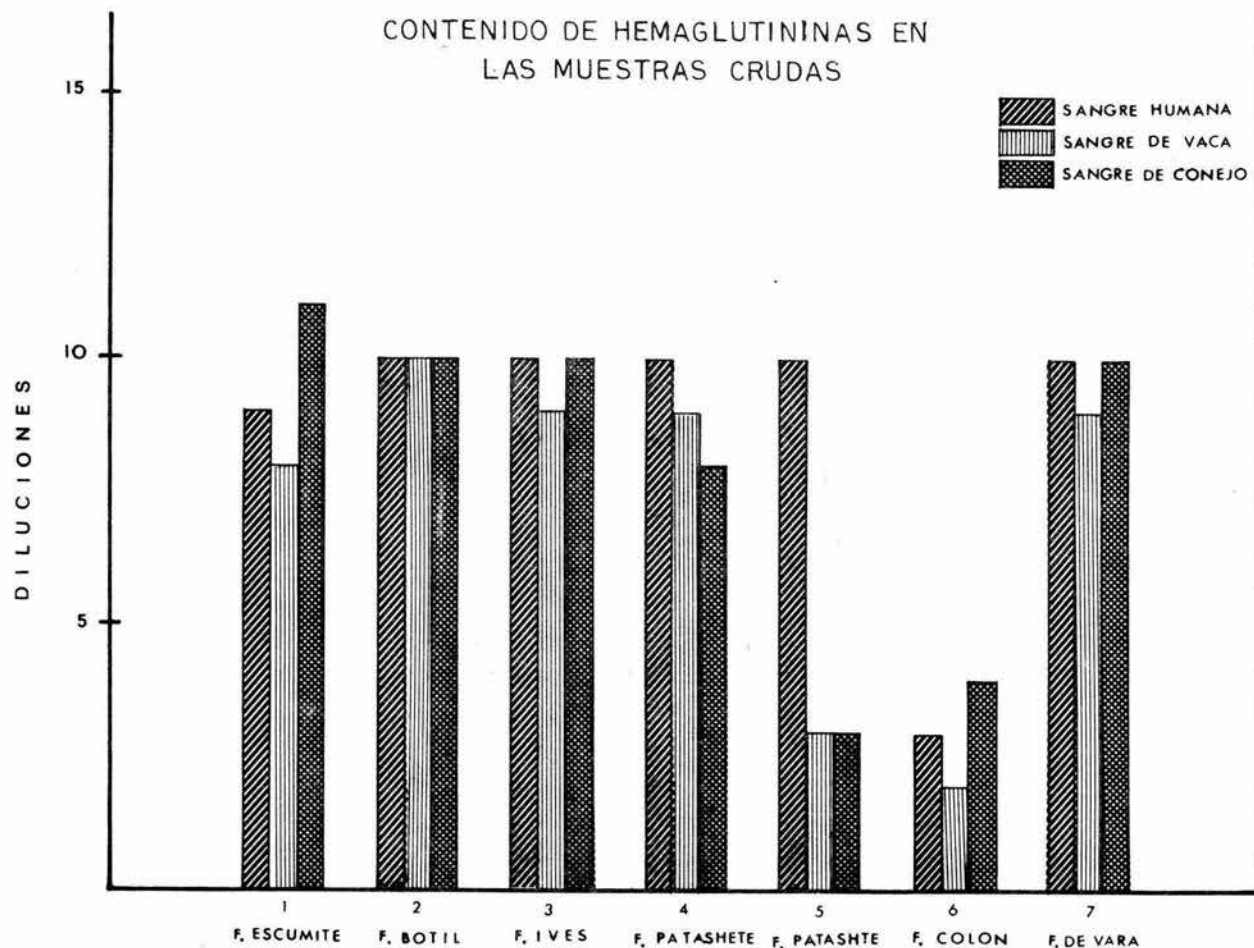
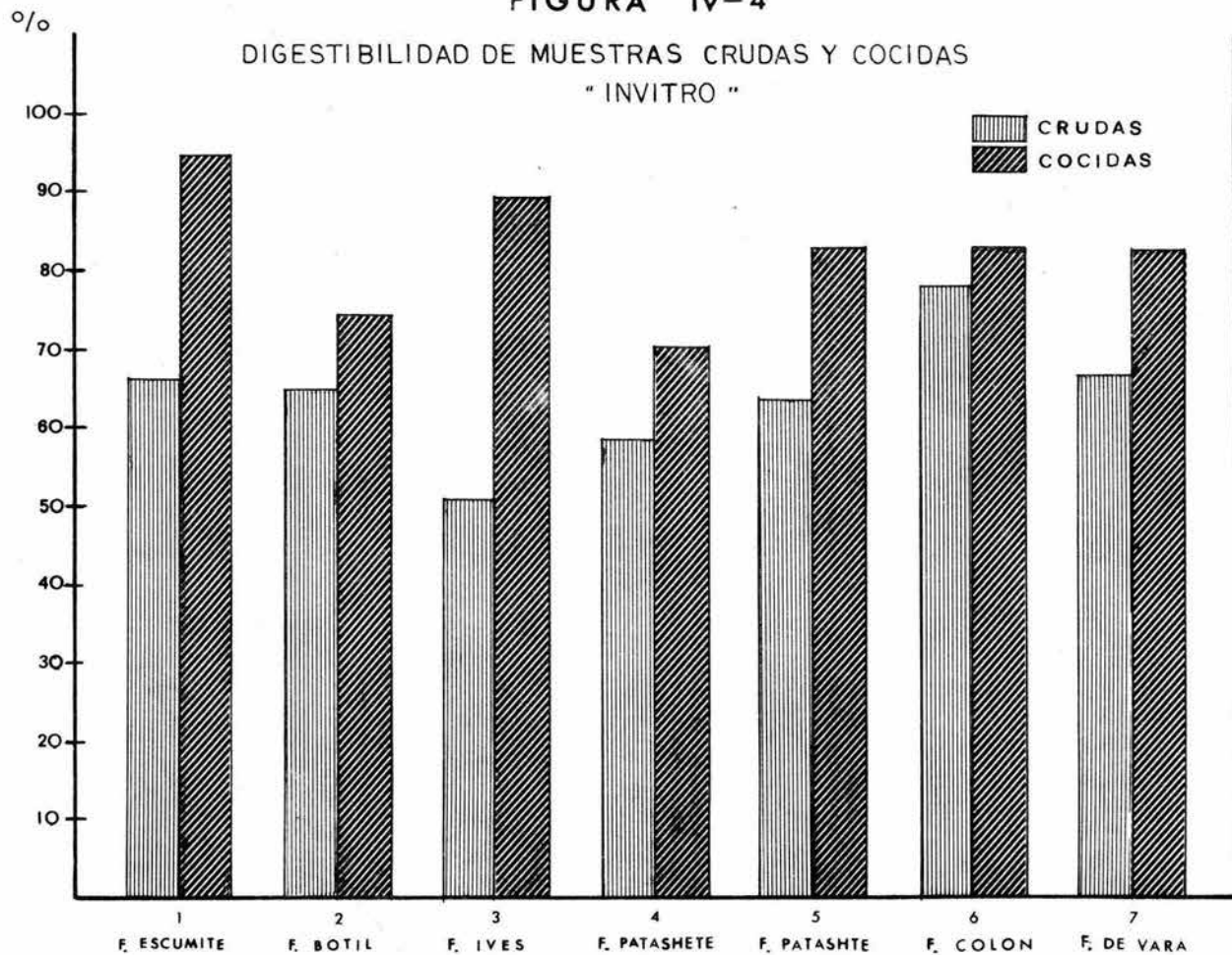


FIGURA IV-4

DIGESTIBILIDAD DE MUESTRAS CRUDAS Y COCIDAS  
" INVITRO "



## V. CONCLUSIONES

- 1.- Los frijoles estudiados tienen un contenido de proteínas que va de 21 a 27%, aunque la mayoría de ellos tiene 25% de proteínas. Ninguno de los frijoles muestra variaciones marcadamente diferentes en cuanto a los de más componentes químicos.
- 2.- El contenido de aminoácidos de los frijoles no muestra diferencias notables entre las 7 muestras estudiadas, sólo se confirma el bajo contenido de metionina que es característica de las leguminosas.
- 3.- Todos los frijoles crudos aglutinan los tres tipos de sangre. Con -- excepción de los frijoles escumite e ivés, las hemaglutininas de los otros frijoles son totalmente destruidas por el cocimiento. Todos estos frijoles tienen alto contenido de los inhibidores de tripsina pero más del 70% son destruidos por el calentamiento, excepto en el frijol patashete y escumite en que, -- después del tratamiento térmico, todavía conservan el 50 y 59% de actividad -- antitripsina respectivamente.
- 4.- Todos los frijoles producen la muerte de los animales cuando se consumen crudos. De ellos el escumite y el patashete resultaron ser los más -- tóxicos. La muerte de los animales no fué debida a la deficiencia de aminoácidos sino a la presencia de tóxicos; ésto se demostró al adicionar un suplemento de alto valor proteínico (casitone). En todos los casos el efecto mortal de los frijoles desapareció por el calentamiento encontrándose un notable incremento en el valor nutritivo en los frijoles cocidos.

5.- De los siete frijoles estudiados el escumite fué el que mostró tener tóxicos más resistentes al tratamiento térmico y probablemente a esto se deba que sea este frijol el que presente el menor valor nutritivo.

## VI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aykroyd, W.R y J.Doughty. "Las leguminosas en la Nutrición Humana". Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 1964.
- 2.- Bressani, R. "Legumes in Human Diets and how they might be Improved". In: Nutritional Improvement of food legumes by Breeding. Max Milner (Ed.) Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972.
- 3.- Bajaj, S. "Biological Value of Legume Proteins as Influenced By Genetic Variation In: Nutritional Improvement of food legumes by Breeding. Max Miler (Ed.) Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972.
- 4.- Jaffé, W.G. y P. Budowski. "El valor vitamínico de algunas leguminosas Venezolanas" Arch. Latinoam. Nutr.1: 373-378, 1950.
- 5.- Tablas de Composición de Alimentos para uso Internacional, FAO Roma, 1949.
- 6.- Patwardhan, J.N. "Pulses and beans in human nutrition "The PAG Compendium, volume C-2. John Wiley and Jons (Ed.) CII41-CII87 New York, 1975.

- 7.- Tablas de Composición de Alimentos para uso en América Latina, INCAP-ICNND, 1961.
- 8.- Young, V.R. y M.I.T. "Protein Nutritional Aspects Plant Breeding. "The PAG. Compendium, volumen D. John Wiley and Sons (Ed.) New York, 1975.
- 9.- Hellendoorn, E.W. "Legumes in Human Diets and How they might be improved" . In: Nutritional Improvement of food Legume by Breeding .Max Milner (Ed.) Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972.
- 10.- Jaffé, W.G. y M.E.Flores. "La cocción de frijoles(Phaseolus vulgaris)" Arch.Latinoam. Nutr. 25, 1: 79-90, 1975.
- 11.- Whetaker J.R. y R.E .Feeney. "Protease Inhibitors ". Toxican Ocurring Naturally in Foods. National Academy of Science . Washington , D.C. , 1973.
- 12.- Jaffé, W.G. "Factores Tóxicos en Leguminosas". Arch.Latinoam. Nutr. 18, 205-218, 1968.
- 13.- Liener, I.E. "Toxic Factors in edibles legumes and their elimination". Amer. J.Clin. Nutr. 11: 281-298, 1962.
- 14.- Liener, I.E."Antitriptic and other Antinutritional factors in Legumes". In: Nutritional Improvement of food legumes by



- Breeding. Max Milner (Ed.) Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972.
- 15.- Jaffé, W.C. "Protein Digestibility and trypsin inhibitor activity of legumes seeds. "Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75:219, 1950.
  - 16.- Wilson, K.A. "The partial aminoacid sequence of trypsin inhibitor II from Garden bean, *Phaseolus vulgaris*, with location of the trypsin and elastase-reactive sites "J. Biol. Chem. 250, II : 4261, 1975.
  - 17.- Seidl, S.D. y I Liener. "Isolation and properties of complexes Bowman-Birk soybean inhibitor with trypsin and chymotrypsin. J. Biol. Chem. 247, II : 3533-3538, 1972.
  - 18.- Wilson, K.A. y M. Laskowski. "Isolation of three Isoinhibitors of trypsin from Garden bean (*Phaseolus vulgaris*). having either Lysine or Arginine at the reactive site." J. Biol. Chem. 248, 3: 756-762, 1973.
  - 19.- Liener, I. "Effects of Anti-nutritional and toxic Factors on the quality and utilization of legumes proteins. Quality factors Plant Breeding Composition Processing and Antinutrients. Mendel Friedman (Ed.) Inc., New York, 1975.
  - 20.- Gallardo F., H. Araya ; N. Pak y M.A. Tagle. "Factores tóxicos de Leguminosas cultivadas en Chile. II. Inhibidores de Tripsina". Arch. Latinoam. Nutr. 24, 2: 183-189, 1974.

- 21.- Jaffé, W.G. " Toxic Proteins and Peptides ". Toxican Occurring Naturally in Foods. National Academy of Science. Washington, D.C. 1973.
- 22.- Jaffé, W.G. y C.L. Vega Lette. "Heat labile grow inhibiting --- factors in beans. Phaseolus vulgaris . J. Nutr 94 : 203 - 210 --- 1968.
- 23.- Jaffé, W.G. y M. Weskler. " Acción Mitogénica de extractos de Canavalia ensiformis y Concanavalina A. Acta Cient. Venezolana 19 ; 154 -156 , 1968.
- 24.- Jaffé, W.G. y M.J. Gómez. "Beans of High or Low Toxicity.--- Qual. Plant. Pl. Fds. Hum. Nutr. XXIV, 3/4 : 359 - 365. 1975
- 25.- Jaffé, W.G. y O. Brucher. "Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles ( Phaseolus vulgaris ) Arch. Latinoam. Nutr . 22, 2 : 267 - 281 , 1972.
- 26.- Liener, I. E. " Seed Hemagglutinins " Econ. Bot. 18 : 27 -33, --- 1964 .
- 27.- Galbraith, W. y I.J. Goldstein. "Phytohemagglutinin of the Lima Bean ( Phaseolus lunatus ). Isolation, Characterization, and Interaction with Type <sup>A</sup> blood - group substance. J. Biol. Chem. 11, 21 : 3976 - 3984 , 1972.

- 28.- Contreras, S. y M.A. Tagle. "Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile". IV. Hemaglutininas. Arch. Latinoam. Nutr. 24, 2 : 191 - 199, 1974.
- 29.- Conn, E.E. "Cyanogenetic Glycosides " Toxican Occurring Naturally in Foods. National Academy of Science. Second Edition --- Washington, D.C. 1973.
- 30.- Jaffé, W.G. "Estudio sobre la inhibición del crecimiento de ratas causadas por algunas semillas de leguminosas "Arch. Venezolanas Nutr. 1 : 373, 1950.
- 31.- Contreras, S. ; H. Araya ; N. Pak. y M.A. Tagle "Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile" I. Glucósidos Cianogénéticos. Arch. Latinoam. Nutr. 23, 2 : 251 259, 1973.
- 32.- Learmonth, E.M. "The influence of soya flour on bread doughs. III. The distribution of the papain- inhibiting factors in soya beans. J. Sci. Food. Agric. 9 : 269, 1958.
- 33.- Srikatia, S. G. "Use of legume and Green leafy vegetables in feeding infants and young children". The PAG Compendium vol. C-2 Jonh Wileyan Jons. (Ed.) C1227 - C1246, New York, 1975.
- 34.- Hellendoor, E.W. Carbohydrate digestibility and flatulence activity of beans. Nutritional Aspects of Common Beans and other Legumes Seed as Animal and Human foods. Werner Jaffé (Ed). -- 1973.

- 35.- Liener, I. "Summary and Research Needed." In: Nutritional Improvement of food Legumes by Breeding. Max Milner (Ed.). Protein Advisory Group of United Nations Systems. New York, 1972.
- 36.- García, M.R. "1971-1975 Consumo Aparentes" D.G.E.A. Dirección General de Economía Agrícola S.A.G., 1975.
- 37.- Ramírez, J.; L. Ayuardo.; G. Becerra y A. Chavéz, "La crisis de Alimentos en México. Un Análisis de la Situación Alimenticia en Los últimos años. Sección de Economía, Publicación L-23 de la División de Nutrición INN- Conacyt - Pronal ; México 1975.
- 38.- Núñez, S.G. "Frijol su cultivo en Chiapas" Circular CIASE Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, S.A.G. 44; México, 1975.
- 39.- Association of Official Agricultural Chemist. Official Methods of Analisis of the Association of Official Agricultural Chemists. 11a. Edición 1970, Washington D.C.
- 40.- Lombard, J.H. y Lange, D.S. : The Chemical Determination of --- Tryptophan in Food and Mixed Diets. J. Anal Biochem. 10: 260-265, 1965.
- 41.- Kakate, M.L.; Liener, I.E. An Evaluation of Natural vs Synthetic Substrates for measuring the Antitryptic Activity of Soybean Sample. Cereal Chemistry, 46 : 518 - 526, 1969.

- 42.- Jaffé, W.G.; Leney, A. y D.I. González. "Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins". *Phytochemistry* 13: 2685 - 2693, 1974.
- 43.- Akeson, W.B. y M. Stalermann. "Protein digestibility". *J. Nutrition* 83: 257 - 261, 1964.
- 44.- Stein, W ; S . Moore. "Chromatographic Determination of Aminoacid by the Use of Automatic Recording Equipment" , *Method in Enzimology* Vol. VI: 819-848, Academic Press, New York and London, 1963.
- 45.- Miller, D.F. "Biological Assay Methods for Protein Evaluation" Publication 1100, National Academy of Science, Washington, D.C.1963.
- 46.- Bressani, R. y L. G. Elfas. "Evaluación de la Calidad Proteínica de varias Leguminosas de grano usando diversos Métodos Biológicos" *Arch. Latinoam. Nutr.* 26, 3 : 325-340, 1976.