



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

INFLUENCIA DEL DETERIORO DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*
L.) PROVOCADO POR UN MAL ALMACENAMIENTO SOBRE SU
CALIDAD NUTRIMENTAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MARIANA MUNGUÍA PACHECO

ASESOR: M. EN C. ENRIQUE MARTÍNEZ MANRIQUE



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.

Dios ha creado todas las cosas para nosotros. A los animales no les ha dado el poder de escoger libremente. Sólo poseen el instinto. Los animales pueden ser encantadores y sentir por nosotros un maravilloso afecto, pero es todo por instinto. En cambio el ser humano puede escoger libremente. Esto es lo único que Dios no nos quita: el poder de la voluntad, el poder de querer algo.

Madre Teresa de Calcuta

Agradecimientos y Dedicatorias

A Dios Nuestro señor

Por darme la vida y haberme bendecido con una gran familia y amigos, los cuales son parte de mi formación, por estar conmigo en todo momento y darme consuelo.

A mi mamá

Por haberme apoyado toda la vida y enseñarme a ser mejor cada día y nunca darme por vencida, por todo su cariño y comprensión.

A mi hermana Cynthia

Por el cariño que me ha dado toda la vida además de los consejos, la ayuda y el tiempo que me ha brindado.

A Sarita y Juanito

Por todo el tiempo que me brindaron para ayudarme a cumplir este sueño, ya que sin ustedes muchas cosas no se hubieran realizado.

A M. en C. Enrique Martínez Manrique

Por haberme permitido formar parte de su equipo de trabajo, por haber depositado su confianza en mí y por todo su apoyo.

A mis amigos Anabell, Norma, Danae, Luisa y Argel

Por haberlos conocido y por brindarme su amistad y cariño, por apoyarme y por todos esos momentos tan felices y divertidos que vivimos.

A Omar

Por su compañía, cariño y comprensión, por todos esos momentos que pasamos juntos.

*Al equipo de trabajo del Laboratorio 8 de la Unidad Multidisciplinaria
Por su ayuda, tiempo y amistad en la elaboración de esta tesis*

A mis sinodales

*Por el tiempo que invirtieron en la revisión de este trabajo, por sus consejos
y amistad.*

ÍNDICE

RESUMEN	i
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Generalidades del frijol.....	5
2.1.1. Producción y Comercialización.....	8
2.1.2. Estructura básica.....	11
2.2. Calidad Nutricional del frijol.....	14
2.2.1 Composición Química.....	14
2.2.2. Calidad Proteica.....	14
2.2.3. Carbohidratos.....	15
2.2.4. Lípidos Vitaminas y Minerales.....	16
2.2.5. Agentes tóxicos y antinutricionales.....	17
2.3. Almacenamiento del frijol.....	21
2.3.1. Condiciones óptimas de almacenamiento.....	21
2.3.2. Deterioro por un almacenamiento inadecuado y cambios moleculares en el grano deteriorado.....	22
3. OBJETIVOS	25
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	27
4.1. Cuadro Metodológico.....	28
4.2 Materiales y Métodos.....	29
4.2.1. Preparación del Material Biológico.....	29
4.2.2. Determinación de grado de deterioro.....	30
4.2.3. Determinación de los tiempos de cocimiento comestible.....	32

4.2.4. Análisis Químico Proximal.....	32
4.2.5. Evaluación de la calidad Proteica.....	32
4.2.5.1. Cuantificación de aminoácidos.....	32
4.2.5.2. Cuantificación de Triptófano.....	34
4.2.5.3. Digestibilidad “in Vitro”.....	38
4.2.6. Determinación de taninos.....	39
4.2.7 Determinación de inhibidores de tripsina.....	42
4.2.8 Determinación de ácido fítico.....	44
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
5.1. Determinación de grado de deterioro.....	49
5.2. Determinación de los tiempos de cocimiento culinario de los diferentes lotes de frijol.....	49
5.3. Análisis Químico Proximal.....	51
5.4. Evaluación de la calidad Proteica.....	54
5.4.1. Cuantificación de aminoácidos.....	54
5.4.2. Digestibilidad “in Vitro”.....	58
5.5. Determinación de taninos.....	59
5.6. Determinación de inhibidores de tripsina.....	60
5.7. Determinación de ácido fítico.....	61
6. CONCLUSIONES.....	63
7. REFERENCIAS.....	65
8. ANEXOS.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación botánica.....	5
Tabla 2.	Variedades de frijol más consumidas en México.....	7
Tabla 3.	Clasificación del frijol según su consumo en México.....	8
Tabla 4.	Consumo mundial de frijol.....	9
Tabla 5.	Preferencias en las presentaciones del frijol.....	10
Tabla 6.	Características del frijol de buena calidad según el mercado.....	11
Tabla 7.	Composición química del frijol Flor de Mayo.....	14
Tabla 8.	Contenido aproximado de factores tóxicos o antinutrientales en algunas leguminosas.....	17
Tabla 9.	Diluciones para la determinación de taninos.....	41
Tabla 10.	Diluciones para la elaboración de la solución de referencia de ácido fítico.....	45
Tabla 11.	Diluciones para la elaboración de la curva patrón de ácido fítico.....	46
Tabla 12.	Tiempo de cocción de frijol Flor de Mayo fresco y con diferente grado de deterioro.....	49
Tabla 13.	Métodos de cocción y tiempos de cocimiento comestible.....	50
Tabla 14.	Análisis Químico Proximal de frijoles crudos y cocidos (control y deteriorados).....	52
Tabla 15.	Composición de aminoácidos del frijol Flor de Mayo.....	56
Tabla 16.	Composición de aminoácidos esenciales de frijol Flor de Mayo crudos y cocidos, incluyendo al Triptófano.....	57
Tabla 17.	Digestibilidad de proteínas en frijol con diferente grado de deterioro y método de cocción.....	58

Tabla 18.	Porcentaje de ácido tánico en frijol con diferente grado de deterioro, crudo y cocido.....	59
Tabla 19.	Inhibidores de Tripsina presentes en frijol crudo.....	61
Tabla 20.	Concentración de ácido fitico en muestras de frijol con diferente grado de deterioro.....	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Producción Mundial de frijol (2003).....	8
Figura 2.	Principales Estados productores de frijol (2004).....	9
Figura 3.	Estructura externa del frijol.....	11
Figura 4.	Estructura interna del frijol.....	13
Figura 5.	Muestras de frijol almacenado.....	30
Figura 6.	Cocinador Mattson con soporte y accesorios.....	31
Figura 7.	Cocinador Mattson.....	31
Figura 8.	Espectrofotómetro Beckman DU-450.....	37
Figura 9.	Parrilla de agitación con muestra.....	40
Figura 10.	Centrífuga IEC Centra 4B.....	40
Figura 11.	Métodos de cocción y tiempos de cocimiento comestible.....	51

RESUMEN

El frijol es una leguminosa originaria de América que ocupa el segundo lugar de consumo en México después del maíz (Arias, 2007). Es una buena fuente de proteínas, carbohidratos, vitaminas del complejo B y de ácidos grasos poliinsaturados (Obesidad, 2002). Su principal atributo son sus proteínas y el aminoácido de mayor importancia es la Lisina, el cual se encuentra deficiente en los cereales, por lo que al combinar estos con el frijol se complementan y aumentan su calidad nutrimental (Bonilla, 1991).

Se ha observado que un almacenamiento inadecuado del frijol (HR>65%, T>25°C) provoca un aumento en el tiempo de cocción (Shiga, 2003) necesario para poder consumirlo y probablemente este aumento pudiera disminuir su calidad nutrimental, afectando especialmente su contenido de aminoácidos. Por otra parte, también se ha reportado (Hincks, 1987) que el deterioro del frijol provoca cambios en su pared celular que lo hacen más rígido y por esto aumentan sus tiempos de cocción. En el presente trabajo se planteó la posibilidad de que este aumento en la fuerza de la pared celular pudiera servir de protección a los factores antinutrimientales presentes en el frijol y evitar su inactivación y/o eliminación por el tratamiento térmico.

Es por esto que en esta investigación se evaluó el efecto del deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por un almacenamiento inadecuado, sobre la calidad de su proteína y el contenido de factores antinutrimientales. Para ello se emplearon tres lotes de frijol Flor de Mayo, dos sometidos a condiciones inadecuadas de almacenamiento (HR=75%, T=40°C, t=18 y 45 días de almacenamiento), y un control que se mantuvo almacenado a una humedad relativa menor de 60% y 4°C de temperatura.

En estos materiales se evaluó el tiempo de cocción culinario, es decir, el tiempo necesario para que el frijol pueda consumirse. También se realizó el análisis químico proximal; la calidad nutrimental del frijol, mediante la cuantificación de aminoácidos y digestibilidad de las proteínas; además de cuantificar algunos factores antinutrimientales, como: inhibidores de tripsina, ácido fítico y taninos.

Los resultados encontrados en el análisis químico proximal mostraron que el deterioro tuvo poco efecto sobre estos parámetros, pero se observó un efecto importante en los aminoácidos, especialmente se encontró una notable disminución en los aminoácidos esenciales, principalmente en Lisina y Triptófano, lo que indicó que la calidad nutrimental de la proteína del frijol sí fue afectada por su deterioro. Por otra parte los factores antinutrimientales como los taninos y ácido fítico disminuyeron su concentración en el grano y aunque no fueron eliminados en su totalidad, los porcentajes cuantificados no tendrán un efecto dañino para quien los consuma; mientras que los inhibidores de tripsina fueron inactivados en su totalidad. Estos resultados indicaron que el deterioro del frijol no tuvo un efecto protector sobre los factores antinutrimientales medidos.

1. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El frijol es una leguminosa que forma parte de la dieta diaria del mexicano. Su consumo es importante, ya que es una buena fuente de proteínas de bajo costo y con una buena calidad nutrimental, especialmente por su contenido de aminoácidos esenciales, los cuales son de gran importancia ya que ayudan a prevenir la desnutrición, destacando su contenido de lisina mientras que, por el contrario, las proteínas de los cereales como en el caso del maíz que es el principal alimento en México, son deficientes en este aminoácido, pero al consumirse juntos se complementan, mejorando la calidad nutrimental.

Como la mayoría de los alimentos, el frijol no se consume recién cosechado, si no que se tiene que almacenar para su posterior distribución. El sistema de almacenamiento en México, es deficiente, sobre todo en regiones de bajos recursos económicos, en donde se emplea el frijol para autoconsumo. Las condiciones inadecuadas de almacenamiento, generalmente humedades relativas superiores a 65% y temperaturas por arriba de 25°C, provocan el deterioro del frijol, lo que genera un aumento en su tiempo de cocción; este incremento pudiera provocar la disminución de su calidad nutrimental, debido al tratamiento térmico mayor, necesario para poder consumirlo. Este problema es de vital importancia, pues como se mencionó antes, el frijol es el principal alimento de la población de escasos recursos y si su calidad nutrimental disminuye durante el almacenamiento, los problemas de desnutrición podrían aumentar.

Por otra parte se sabe que el frijol tiene factores antinutrimientales, que son compuestos que afectan los nutrientes, disminuyendo y/o evitando su absorción. Estos factores son afectados por el calor y con el tratamiento térmico al que es sometido el frijol antes de consumirse, normalmente se

inactivan y/o se eliminan del grano (Frontela, 2008). También se conoce que el deterioro del frijol provocado por un mal almacenamiento, modifica su pared celular, aumentando su rigidez y la dureza del grano (Shomer, 1990; Méndez, 2003). Posiblemente estas modificaciones podrían generar un efecto protector de los factores antinutrimientales durante la cocción del frijol, evitando o disminuyendo su inactivación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por un almacenamiento inadecuado sobre la calidad de su proteína y el contenido de factores antinutrimientales.

Para cumplir con este objetivo se determinaron los tiempos de cocción comestible del frijol Flor de Mayo tanto en un lote control como en dos lotes deteriorados; también se realizó la determinación de los componentes químicos del frijol por medio del análisis químico proximal; la determinación del perfil de aminoácidos y la digestibilidad “in vitro”; además de la determinación de factores antinutrimientales como inhibidores de tripsina, taninos y ácido fítico.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del frijol

El frijol es una leguminosa originaria de América y fue uno de los primeros granos que se cultivaron. Ocupa el segundo lugar de importancia en México después del maíz. Además de ser un alimento tradicional, también es tomado como un elemento de identificación cultural junto con el maíz y el chile, los cuales son parte de la dieta alimenticia del mexicano y es consumido tanto en medios rurales como urbanos, sin importar la clase social (Arias, 2007).

El frijol pertenece al género *Phaseolus* y su especie es *Phaseolus vulgaris* L., en la Tabla 1 se muestra su clasificación botánica:

Tabla 1. Clasificación botánica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliófitas</i>
Subdivisión:	-----
Clase:	<i>Dicotiledóneas</i>
Subclase:	<i>Rósidas</i>
Orden:	<i>Fabales</i>
Género:	<i>Phaseolus</i>
Especie:	<i>Phaseolus vulgaris</i>

Fuente: Rojas, 2006.

Aunque el frijol se cultiva en toda la República Mexicana, requiere de factores climáticos específicos. El rango de temperatura óptima es de 15-27°C, la luz es importante para la fotosíntesis, pero un exceso de luz retarda la maduración, por lo que es recomendable el cultivo en días cortos. Con respecto al agua que necesita el cultivo, se requiere de 400 a 500 mm de precipitación promedio anual. Requiere suelos con pH entre 5.5 y 6.5 (Arias, 2007).

En México existen cerca de 70 variedades de frijol que se distribuyen en 7 grupos: negros, bayos, amarillos, pintos, blancos, moteados y morados. Existen variedades de frijol tanto para cultivo de temporal como de riego. En el caso de los cultivos de temporal se prefieren variedades precoces, arbustivas, de mata con flores determinadas y con un ciclo vegetativo relativamente corto de 85 a 100 días (Pinto Americano, Bayo Madero y Pinto Mestizo de ciclo precoz, Pinto Villa, Pinto Saltillo, Flor de Mayo M-38 y Flor de Mayo Criollo de ciclo intermedio). Estas variedades resisten mejor las condiciones adversas de este sistema de cultivo, como son las irregularidades de precipitación, sequías y heladas (SAGARPA, 2003).

Por otra parte los cultivos de riego incluyen variedades como: Azufrado Namiquipa, Flor de Mayo Bajío, Flor de Mayo M-38 (SAGARPA, 2009), este tipo de siembra proporciona un incremento en el rendimiento del frijol. Este cultivo se caracteriza porque deben de llevarse a cabo cuatro riegos durante la siembra:

1° Riego.- 30 días después de la siembra.

2° Riego.- 25 días después del primero.

3° Riego.- 20 días después del segundo.

4° Riego.- 20 días después del tercero.

Es muy importante que no falte humedad a la planta en las etapas de floración y formación del grano. Aunque algunas lluvias coincidan con estas etapas, no son suficientes para asegurar buena cosecha, por lo que es necesario aplicar el riego aunque éste sea ligero (SAGARPA, 2009).

Este tipo de cultivos también se emplean cuando las características de los suelos son compactas, volviéndose duros por la formación de costras que evitan la emergencia de las plántulas (Hernández, 2003).

El consumo del frijol depende tanto de la variedad como de la región del país.

Las variedades más consumidas en México son el frijol Negro, Bayo y Flor de Mayo (Tabla 2). Aunque, como ya se mencionó, depende de la región en la que se va a consumir.

Tabla 2. Variedades de frijol más consumidas en México

Variedad	(%)
Negro	34 %
Bayo	21 %
Flor de Mayo	15 %
Mayocoba o Peruano	10 %
Pinto	9 %
Flor de Junio	4 %
Alubia	3 %
Canario	1 %
Otros	3 %

Fuente: SAGARPA, 2003.

Por ejemplo, en el noroeste del país hay una preferencia por los frijoles claros como el Bayo y el Mayocoba, teniendo en el resto del país un consumo bajo. En el norte hay preferencia por el frijol Pinto, en el centro del país se consume el Flor de Mayo y Flor de Junio, en el sur se consume el frijol Negro. Mientras que en el Distrito Federal se consumen todas las variedades incluyendo el frijol Negro, pero el Flor de Mayo está entre las tres variedades de más preferencia (SIAP-SAGARPA, 2005).

El frijol se puede clasificar basándose en la preferencia del consumidor como: muy preferente, preferente, no preferente. Como podemos observar en la Tabla 3 el frijol Flor de Mayo se encuentra en el grupo muy preferente para el consumo.

Los datos mencionados en los párrafos anteriores muestran que la variedad Flor de Mayo está entre las más consumidas en la región central

del país y sobretodo en el área metropolitana, razón por la cual se decidió trabajar con esta variedad.

Tabla 3. Clasificación del frijol según su consumo en México

Clasificación	Variiedad del frijol
Muy preferente	Azufrado, Mayocoba, Negro Jamapa, Peruano, Flor de Mayo y Flor de Junio.
Preferente	Garbancillo, Manzano, Negro San Luis, Negro Querétaro y Pinto.
No preferente	Alubia Blanca, Bayo Blanco, Negro Zacatecas, Ojo de Cabra y Bayo Berrendo

Fuente: SIAP-SAGARPA (2005)

2.1.1 Producción y comercialización

México se encuentra entre los seis principales productores de frijol en el mundo, que son Brasil, India, China, Myanmar, México y E. U. A. México ocupó el quinto lugar con 1'400,160 de toneladas métricas (Mt) en al año 2003 (Figura 1).

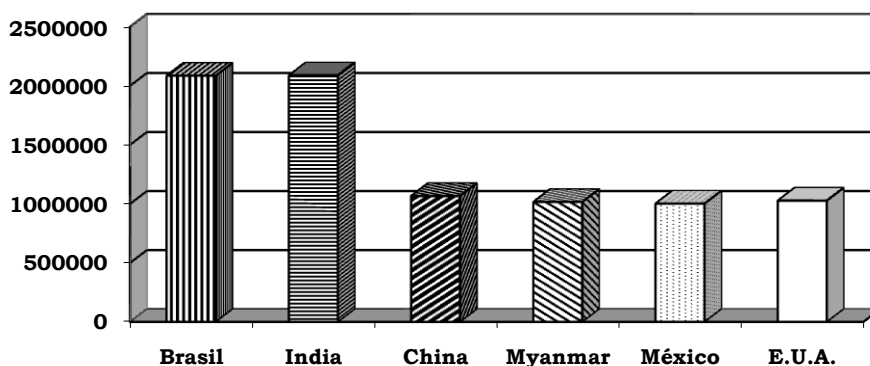


Figura 1. Producción Mundial de frijol (2003)

Fuente: SIAP-SAGARPA, 2005.

En cuanto al consumo, el frijol es parte de la dieta de más de 300 millones de personas en el orbe, las cuales consumen alrededor de 16.7 millones de toneladas, y en estas estadísticas de consumo México ocupa el tercer lugar (Tabla 4).

Tabla 4. Consumo mundial de frijol

País	2000	2001	2002	2003	2004
Brasil	2.684	2.823	2.872	3.127	3.002
India	2.050	2.067	2.403	2.358	2.897
México	1.099	1.060	1.150	1.203	1.228
Nigeria	1.110	1.124	1.123	1.152	1.184
E.U.A.	990	951	990	960	603
Uganda	400	502	518	469	522
Myanmar	284	278	280	410	448
Tanzania	258	268	270	279	292
Rest/Mundo	6.529	6.447	6.964	6.645	6.540
TOTAL	15.584	15.521	16.571	16.602	16.717

Fuente: FUNICA, 2006

Estados productores:

En México el frijol tiene el segundo lugar en superficie sembrada en el país después del maíz. Sinaloa es el principal estado productor de frijol, seguido por Zacatecas, Chiapas y Chihuahua (Figura 2; SIAP-SAGARPA, 2005).

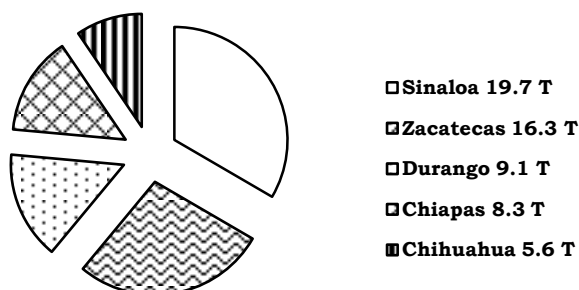


Figura 2. Principales Estados productores de frijol (2004).

Fuente: INEGI, 2008.

Guanajuato es el principal estado productor de la variedad Flor de Mayo, ya que esta variedad se adapta con mayor facilidad al clima del estado (SAGARPA, 2003). Las principales variedades que producen son:

- Flor de Mayo RMC
- Flor de Mayo Bajío
- Flor de Mayo

Comercialización:

La comercialización del frijol se realiza en su mayor parte a granel porque la preferencia de los consumidores se inclina por este tipo de venta. Aunque el frijol embolsado es otra presentación que ha llegado a satisfacer al consumidor ya que presenta tamaño y color homogéneos, además de estar limpio, pulido y brillante (Tabla 5).

Tabla 5. Preferencias en las presentaciones del frijol

Presentaciones	(%)
A granel	52%
Embolsado	24%
Enlatado	13%
Deshidratado	4%
Cocido	7%

Fuente: SAGARPA, 2003

La comercialización del frijol va a depender de su calidad y un factor principal que la determina es la frescura del grano y esto está relacionado con el tiempo de cocción ya que mientras más fresco se encuentre el frijol, el tiempo de cocción será menor (SAGARPA, 2003).

Otros factores que sirven para determinar la calidad son el color, brillantez, dureza del grano, color del caldo y espesor de la cáscara, (L. G. E., 1986) además de otras características que ha recogido la SAGARPA (2003) directamente del consumidor (Tabla 6).

Tabla 6. Características del frijol de buena calidad según el mercado

Bases	Total 1000 personas	Urbano 786 personas	Rural 214 personas
Estar limpio	62%	62%	62%
Cocinarse rápido	33%	34%	29%
Verse fresco y nuevo	32%	33%	29%
No roto	31%	31%	30%
No perforado	20%	17%	30%
Libre de animales	15%	14%	20%
Buen sabor	11%	10%	12%
Estar suaves	10%	10%	11%
Buen precio	10%	10%	8%
Color uniforme	9%	95%	13%

Fuente: SAGARPA, 2003

Como se observa en la Tabla 6 el tiempo de cocción es uno de los parámetros de calidad más importantes para el consumidor, tanto del medio urbano como para el medio rural.

2.1.2 Estructura básica

La estructura externa del frijol esta compuesta por la testa, hilum, micrópilo y rafe (Figura 3).

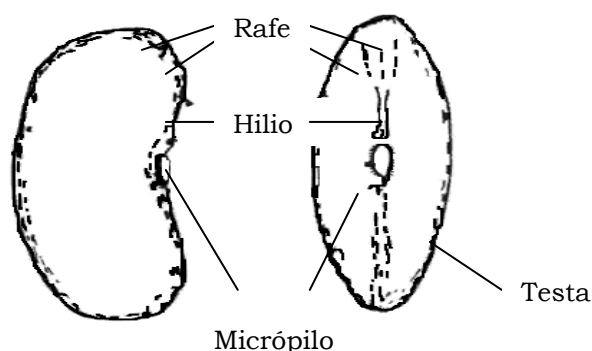


Figura 3. Estructura externa del frijol

FUENTE: Arias, 2007

- Testa o cubierta:

Corresponde a la capa secundaria del óvulo (Arias, 2007), está formada por una capa interna y una externa de cutícula y una o más capas de tejido grueso que sirve de protección y generalmente es dura; proporciona cierto grado de impermeabilidad al agua y a los gases, lo cual le permite ejercer una influencia reguladora sobre el metabolismo y crecimiento de la semilla (Moreno, 1996).

- Hilio:

Es la cicatriz dejada por el funículo o tallo, esta estructura conecta la semilla con la placenta (Arias, 2007).

- Micrópilo:

Corresponde a una abertura natural existente en la semilla localizada cerca del hilio, por esta abertura se realiza la absorción del agua (Arias, 2007).

- Rafe:

Proveniente de la soldadura del funículo con los tegumentos externos del óvulo (Arias, 2007).

Por otra parte la estructura interna del frijol está compuesta por el embrión, el cual está formado por la plúmula, hipocotilo, dos cotiledones y la radícula (Figura 4).

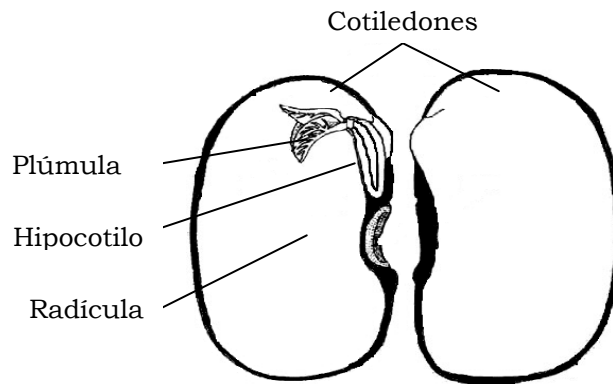


Figura 4. Estructura interna del frijol

FUENTE: Arias, 2007

- Cotiledones:

Se encuentran bajo la testa. El frijol está conformado por dos cotiledones, que es donde se concentran las reservas nutritivas (Arias, 2007). Una vez que emergen y se despliegan, dan lugar al crecimiento del epicotilo.

- Plúmula:

Se encuentra a continuación del epicotilo estando constituida por la yema terminal y los primordios de las primeras hojas trifoliadas (Fenalce, 2007).

- Hipocotilo:

El hipocotilo corresponde a la parte subterránea del tallo principal (Fenalce, 2007).

- Radícula:

La primera expresión de crecimiento en la etapa de germinación corresponde a la aparición de la radícula, la cual se convierte posteriormente en la raíz primaria o principal. En la parte alta de la radícula pocos días después de ocurrida la germinación, se desarrollan entre tres y siete raíces secundarias (Fenalce, 2007).

2.2 Calidad nutrimental del frijol

2.2.1 Composición química del frijol

El frijol es una rica fuente de proteínas y carbohidratos (Tabla 7) además, es una buena fuente de vitaminas del complejo B (niacina, riboflavina, ácido fólico y tiamina). Proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio, tiene un alto contenido en fibra. También es una excelente fuente de ácidos grasos poliinsaturados (Obesidad, 2002).

Tabla 7. Composición química del frijol Flor de Mayo

Componentes	(%)
Humedad	10.4
Carbohidratos	57.6
Proteína	22.6
Grasa	1.5
Fibra	4.2
Ceniza	3.7

Fuente: Cadena, 2007.

2.2.2 Calidad Proteica

Las proteínas del frijol así como otras leguminosas están constituidas por albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas, de las cuales la fracción globulínica es la que se encuentra en mayor proporción, aproximadamente 63%, mientras que las albúminas se encuentran en el frijol en un 8.5%. Dentro de las globulinas, la proteína más importante es la faseolina, la cual presenta un alto contenido de azufre y una proporción extraordinaria de Lisina (Gómez-Brenes, 1983).

La calidad de una proteína está determinada por la capacidad que ésta tenga a satisfacer los requerimientos de aminoácidos y de nitrógeno del

organismo. Esto depende de la composición aminoacídica y la digestibilidad de la proteína (Blanco, 1991).

La calidad de la proteína del frijol es importante porque contiene aminoácidos esenciales entre los que destacan la Lisina, pero presenta cierta deficiencia en los aminoácidos azufrados (Metionina, Cistina). Debido a la deficiencia de Lisina que tienen algunos cereales, el frijol combinado con granos como maíz, arroz, trigo, etc. se complementan obteniendo como resultado una mezcla de mejor calidad proteínica que la de los granos individuales (Bonilla, 1991).

Uno de los factores que más afecta la utilización de las proteínas del frijol es su digestibilidad, pero no se sabe con certeza si este efecto es causado por una descarga muy rápida del intestino o por resistencia de estas proteínas a la hidrólisis de las enzimas gastrointestinales. Se ha sugerido que la baja solubilidad de algunas fracciones proteínicas reduce su susceptibilidad al ataque enzimático (Gómez-Brenes, 1983).

Otra posible causa de la baja digestibilidad de la proteína del frijol podría ser el endurecimiento del grano provocado por un mal almacenamiento, aunque esto no se ha investigado suficientemente (Shiga, 2003).

2.2.3 Carbohidratos

Los carbohidratos constituyen la fracción principal en los granos de las leguminosas, en este caso en el frijol. De ellos el almidón es el más importante, también están los polisacáridos de la pared celular (fibra dietética) y los oligosacáridos (rafinosa y estaquinososa) que se encuentran en cantidades pequeñas (Vargas-Torres, 2006).

El almidón es el carbohidrato dominante en la dieta humana y se considera como un carbohidrato disponible pero es un carbohidrato de lenta digestión (Osorio-Díaz, 2003).

Sin embargo, una fracción del almidón resiste la hidrólisis por las enzimas digestivas humanas, sigue su tránsito por el intestino delgado y llega al intestino grueso donde es fermentado por la microflora del colon. Esta fracción llamada almidón resistente (AR), se define como la suma del almidón y productos de la degradación del almidón no absorbidos en el intestino delgado de individuos sanos (Osorio-Díaz, 2003).

Las leguminosas contienen altos niveles de fibra dietética tanto fibra insoluble como fibra soluble (Bilbao, 2000), lo cual da una alta resistencia a la solubilización de la pared celular durante la cocción (Osorio-Díaz, 2003).

2.2.4 Lípidos, Vitaminas y Minerales

Los lípidos están presentes en forma de glicéridos de ácidos grasos. En realidad son un grupo de sustancias químicas heterogéneas. La mayoría son insaturados y entre los principales están el ácido oleico, el linoléico y el linolénico, que son considerados como indispensables, lo que aumenta la calidad nutricional del frijol (Moreno, 1996).

En cuanto a las vitaminas y minerales que contiene el frijol se encuentran vitaminas del complejo B como (niacina, riboflavina, ácido fólico y tiamina). Igualmente proporciona hierro, cobre, zinc, fósforo, potasio, magnesio y calcio y tiene un alto contenido en fibra (Obesidad, 2002).

2.2.5 Agentes tóxicos y antinutrientales

Las semillas de leguminosas junto con los granos de cereales fueron de los primeros alimentos seleccionados por el hombre para su consumo. Además del alto valor nutricional que poseen las leguminosas también tienen ciertas sustancias que se consideran como tóxicas y otras que son antinutrientales. Entre estos factores se encuentran los inhibidores de enzimas proteolíticas, como los inhibidores de α -amilasa y tripsina, los tóxicos como hemaglutininas y saponinas. La mayoría de éstos compuestos pueden ser destruidos por la cocción tradicional aunque los inhibidores de α -amilasa son los más termorresistentes cuando no existe una hidratación previa (Bonilla, 1991).

En la Tabla 8 se muestra el contenido aproximado de algunos de los agentes tóxicos o antinutrientales que pueden estar presentes en ciertas leguminosas convencionales (Valle, 2000).

Tabla 8. Contenido aproximado de factores tóxicos o antinutrientales en algunas leguminosas

Factor tóxico	Haba (<i>Vicia faba</i>)	Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	Frijol (<i>Phaseolus spp.</i>)	Lupino (<i>Lipinus spp.</i>)	Soya (<i>Glicine max.</i>)
Taninos	Alto	Bajo	Bajo-Medio	Bajo	Bajo
Inhibidores de tripsina	Bajo-Medio	Bajo-Medio	Bajo	Bajo	Alto
Lectinas	Bajo	Medio	Alto	Bajo	Alto
Fitatos	Bajo	Bajo	(?)	(?)	(?)
Glucósidos tóxicos	Alto	Ausente	Ausente	Ausente	(*)
Alcaloides	Ausente	Ausente	Ausente	Alto	Ausente
Oligosacáridos no digeribles	Medio	Bajo	Medio	Medio	Bajo

Fuente: Valle, 2000

(?) No hay datos concluyentes

(*) La soya contiene saponinas, pero en estos glucósidos no está bien definido su efecto dañino.

Inhibidores de tripsina:

Los inhibidores de proteasas son muy frecuentes en los alimentos de origen vegetal, los cuales inhiben los sistemas enzimáticos de sus depredadores (microorganismos o insectos) o tienen una función reguladora interviniendo en el proceso de autorregulación proteolítica o de almacenamiento en el organismo que los contiene. Gran parte de los alimentos de origen vegetal presentan inhibidores de proteasas; sin embargo es de destacar la amplia presencia de estos compuestos en este grupo de alimentos en donde la mayor proporción se manifiesta en la semilla. Los inhibidores de tripsina pueden coexistir en la misma planta con otros inhibidores proteolíticos (Valle, 2000).

Cabe mencionar que los inhibidores de proteasas más estudiados son los que actúan sobre la tripsina, ya que es una enzima digestiva de gran importancia en la digestión de los monogástricos como el hombre. Estas proteínas han sido aisladas de diferentes plantas o animales. Entre las más importantes están las de la soya, del frijol, papa y del ovomucoide de los huevos de aves (Valle, 2000).

Nutricionalmente causan un retraso en el crecimiento o un índice bajo de la Eficiencia Proteica (PER). Este inhibidor al ser inactivado por tratamientos térmicos hace que el PER aumente. Sin embargo si se tratara de destruirlo completamente las condiciones para esto son bastante drásticas, ocasionando la degradación de nutrimentos (Valle, 2000).

Mediante el calentamiento apropiado puede destruirse el efecto de los principales inhibidores de las proteasas o al menos disminuirlo en gran parte. El grado de destrucción de los inhibidores depende de la temperatura, de la duración del calentamiento, del volumen del alimento y de su contenido de agua. El inhibidor de la tripsina se destruye

sometiéndolo a la acción del vapor durante 15 minutos cuando la humedad es del 20% y si el contenido de humedad es de 60% basta con 5 minutos al vapor. También si se pone el frijol a remojar durante la noche y se hierve durante 5 minutos se destruye (Lindner, 1995).

Un contenido mayor de 10 unidades de inhibidores de tripsina se considera que causan daño a la salud del organismo que los ingiere (Flores, 2003).

Taninos:

Son un grupo heterogéneo de polifenoles solubles en agua, con la capacidad de precipitar alcaloides y proteínas. Presentan las reacciones características de los fenoles solubles en agua y se consideran metabolitos secundarios de plantas. Los taninos comprenden una pequeña parte del tan amplio como diverso grupo de los compuestos fenólicos vegetales que abarca los ácidos fenólicos de 7 a 9 átomos de carbono, tales como los ácidos gálico y p-cumárico, los flavanos de 15 átomos de carbono, y las ligninas, las cuales tiene un alto grado de polimerización (Flores, 2003).

La digestibilidad de la faseolina, principal proteína del frijol, aumenta a medida que se cuece el grano, pero si la cantidad de taninos aumenta, la digestibilidad disminuye. La intensidad del efecto inhibitorio de los taninos varía según factores como la reactividad del tanino, el tipo de cultivo, el tipo de proteína al cual se va a unir, el grado de afinidad entre tanino y proteína (Del Pino, 2003).

El alto contenido en taninos disminuye el valor alimenticio, especialmente por su reacción con el aminoácido Lisina (Lindner, 1995).

Los taninos tienen un efecto antinutricional cuando los alimentos contienen 5% o más de estos compuestos (Biomanantial, 2003). El remojo y la cocción, se consideran como un proceso en el cual se extrae una porción importante de los taninos de la semilla y se reduce así su efecto (Flores, 2003).

Ácido fítico:

El ácido fítico es el éster hexafosfórico del ciclohexanol, tiene la capacidad de establecer fuertes uniones iónicas con minerales esenciales en la nutrición, formando quelatos insolubles con iones divalentes como son: calcio, magnesio, zinc, cobre y hierro, provocando que estos minerales no pueden ser absorbidos por el organismo (Valle y Lucas, 2000). El humano presenta una limitada capacidad de hidrolizar el ácido fítico, produciéndose como consecuencia una importante disminución en la absorción de los minerales implicados (Frontela, 2008).

El ácido fítico se encuentra naturalmente en diferentes alimentos, como un complejo de fitato-mineral-proteína, incluso se ha sugerido que también pueden formar complejos con los carbohidratos (Badui, 2006). Este compuesto disminuye la unión de gastroferrina (Fe^{++} , Fe^{+++}) bajando así la absorción del calcio, magnesio, fósforo, zinc y molibdeno en el intestino, ya que un gramo de ácido fítico es capaz de secuestrar irreversiblemente un gramo de calcio, provocando una deficiencia de este mineral, esto ocurre a concentraciones de 2-5 g/kg (Valle, 2000).

El consumo de ácido fítico recomendado, no debe de exceder 1-1.5 g/día (Health notes, 2004).

Los métodos físicos tales como la molienda y la trituración reduce los niveles de ácido fítico, aunque el remojo y la germinación de las semillas es

más eficaz en la eliminación de los fitatos presentes, ya que una de las características fundamentales a tener en cuenta es la termotolerancia que presentan las fitasas, las cuales producen una degradación del contenido en ácido fítico (Frontela, 2008).

2.3 Almacenamiento del frijol

En México, una buena parte del frijol se consume después de un largo periodo de almacenamiento. El objetivo del almacenamiento es mantener la calidad de la semilla desde que se cosecha hasta que se comercializa. Una parte se almacena en bodegas o se envasa a granel y permanece en anaqueles por un tiempo, antes de ser utilizado por el consumidor (Fornos, 2005).

Un almacenamiento adecuado preserva la viabilidad y el vigor de la semilla, además de las cualidades nutrimentales y sensoriales del grano. El tiempo de almacenamiento del frijol depende de tres factores principales: La humedad relativa del ambiente, la humedad de la semilla y la temperatura ambiente (Colprocah, 2009).

2.3.1. Condiciones óptimas de almacenamiento

El almacenamiento requiere que la semilla de frijol que se va a almacenar cumpla con algunos requisitos (Colprocah, 2009):

- Buena calidad.
- Humedad de 11%-12%.
- Un adecuado control de insectos antes del almacenamiento.
- Disponer de envases apropiados para un almacenamiento hermético como tambos plásticos, barriles plásticos y metálicos o silos metálicos.

- Almacenamiento en lugares frescos y ventilados donde la temperatura del ambiente no sobrepase los 25°C.
- Y que la humedad relativa no sea mayor a 65%.

2.3.2. Deterioro por un almacenamiento inadecuado y cambios moleculares en el grano deteriorado

La calidad del grano se ve afectada por un mal almacenamiento, este mal almacenamiento se da cuando la temperatura ambiente sobrepasa los 25°C y la humedad relativa es mayor a 65%.

El frijol que ha sido sometido a periodos de almacenamiento en condiciones adversas, sufre pérdidas en calidad, tales como el aumento en el contenido de humedad, aumento en el tiempo de cocción (Shiga, 2003) y cambios en el color de la testa, provocados por oxidación, ya que la testa tiende a oscurecerse (Fornos, 2005; Sefa-Dedeh, 1978).

Tanto las altas temperaturas como los porcentajes elevados de humedad, provocan que el frijol se endurezca, este fenómeno es conocido como “endurecimiento a la cocción” (Hard to Cook), el cual provoca un aumento considerable en los tiempos de cocción (Shiga, 2003).

El frijol que sufre de este defecto requiere de tiempos prolongados de cocción, lo cual puede provocar pérdidas nutrimentales y sobre todo aminoácidos que pueden afectar la principal calidad del grano, además de afectar la calidad de la textura, reduciendo así la aceptación de los consumidores (Shiga, 2003).

El endurecimiento del frijol se ha relacionado con varios mecanismos, los cuales comprende la gelatinización del almidón, desnaturalización de proteínas y cambios de los componentes en la pared celular (Shiga, 2003).

De igual forma, la polimerización de los fenoles de la pared celular puede conducir al endurecimiento (Shomer, 1990); igual que un alto contenido de fitatos (Hincks, 1986).

Pero lo que más influye en el endurecimiento del grano de frijol son los cambios ocurridos en pared celular, principalmente modificaciones en la solubilización de pectinas (Liu, 1993).

La pared celular está formada por la lámina media, la pared celular primaria y en algunos tipos de célula, se tiene pared celular secundaria. La lámina media está formada por pectinas, que son polisacáridos formados por diferentes azúcares como los homogalacturonanos, ramnogalacturonanos I y en algunos casos ramnogalacturonanos II, los primeros son cadenas de ácido galacturónico y son los más abundantes en la lámina media; los segundos están formados por ramnosa y ácido galacturónico como cadena principal, arabinosa y galactosa como ramificaciones y los últimos están formados por una gran variedad de azúcares (Carpita, 2000).

Se ha observado que durante la cocción, las células del cotiledón del frijol se separan, lo que indica que las pectinas de la lámina media se solubilizan; mientras que en frijoles deteriorados y endurecidos, las células se mantienen juntas, es decir, no se pierde la lámina media y no se solubilizan las pectinas (Méndez, 2003).

Por otra parte, se ha reportado que la cantidad de pectina solubilizada en frijoles frescos es mayor que en frijoles endurecidos (Blancas, 2001;

Méndez, 2003). Estos resultados junto con los presentados sobre fenoles (Shomer, 1990) y ácido fitico (Hincks, 1986) indican que la pared celular se está modificando durante el deterioro del frijol y en el grano endurecido la lámina media y la pared celular primaria han sufrido cambios que evitan que se solubilizan sus componentes, lo que da una mayor fuerza al tejido y por eso es necesario más tiempo para lograr el ablandamiento del frijol para que pueda consumirse.

Esta mayor fuerza de la pared celular producida por un deterioro del frijol, podría servir de protección a los compuestos antinutrientales que contiene el grano, los cuales como ya se mencionó son termolábiles, y disminuir o evitar su pérdida y/o inactivación durante la cocción del frijol, lo cual provocaría una disminución de su calidad nutricional.

Por lo tanto, en este trabajo se han planteado un par de cuestionamientos; si el endurecimiento del frijol provocado por un mal almacenamiento tiene algún efecto sobre la calidad de su proteína y/o sobre la pérdida o inactivación de los factores antinutrientales, lo que disminuiría su calidad nutricional.

3. OBJETIVOS

- **Objetivo General:**

Evaluar el efecto del deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) provocado por un almacenamiento inadecuado (HR=75%, T°=40°C, t=18 y 45 días), sobre la calidad de su proteína y el contenido de factores antinutrimientales.

- **Objetivos particulares:**

Objetivo Particular 1:

Determinar el tiempo de cocción del frijol Flor de Mayo con diferente grado de deterioro ocasionado por condiciones inadecuadas de almacenamiento.

Objetivo Particular 2:

Determinar la composición química del grano de frijol Flor de Mayo control y deteriorado para evaluar si el almacenamiento inadecuado tiene un efecto sobre ella.

Objetivo Particular 3:

Evaluar el efecto del deterioro del frijol Flor de Mayo sobre la calidad de su proteína determinando su composición de aminoácidos y su digestibilidad.

Objetivo Particular 4:

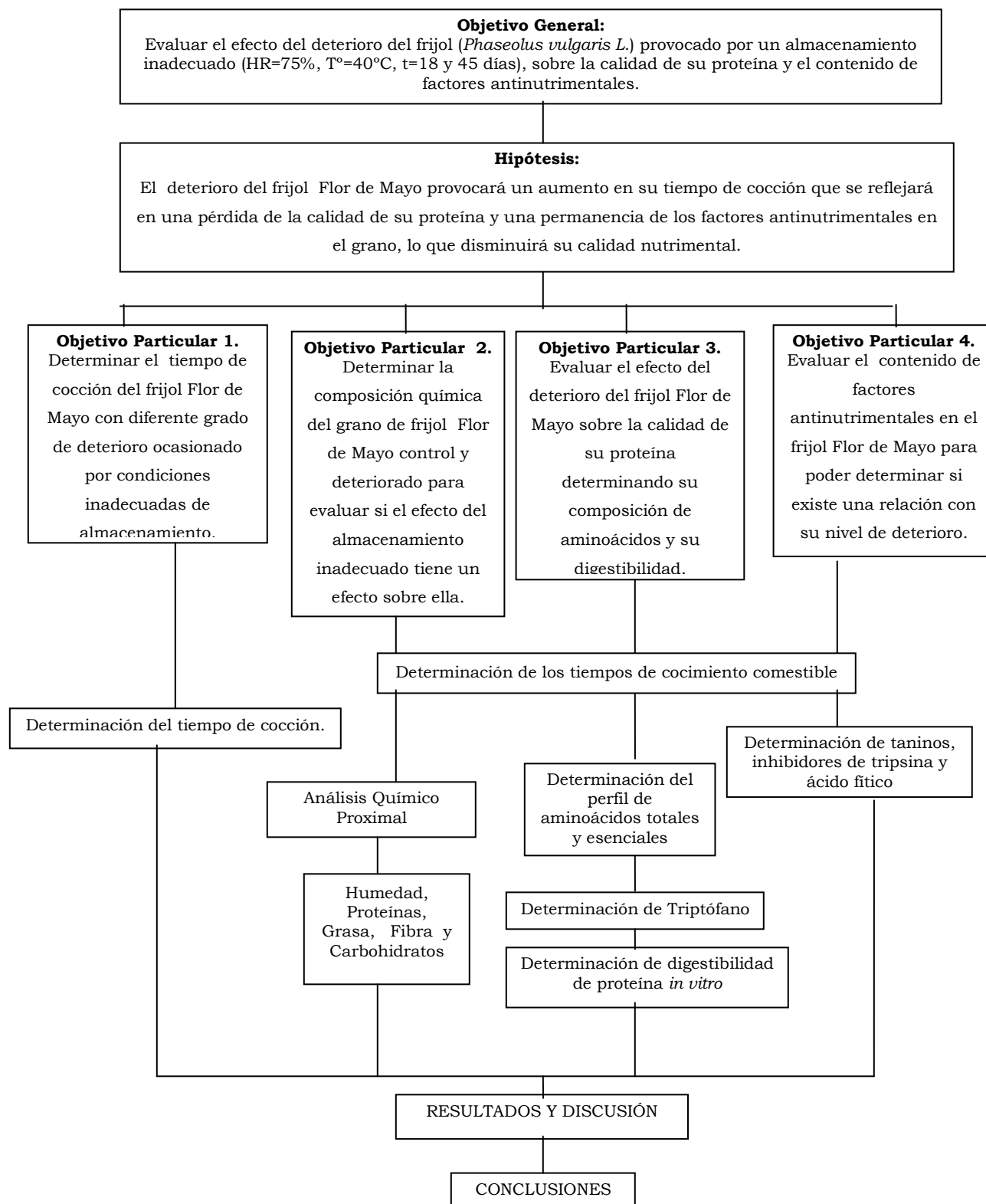
Evaluar el contenido de factores antinutrimientales en el frijol Flor de Mayo para poder determinar si existe una relación con su nivel de deterioro.

Hipótesis:

El deterioro del frijol Flor de Mayo provocará un aumento en su tiempo de cocción que se reflejará en una pérdida de la calidad de su proteína y una permanencia de los factores antinutrimientales en el grano, lo que disminuirá su calidad nutricional.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 Cuadro Metodológico



4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Preparación del material biológico

Se utilizó frijol Flor de Mayo, de la cosecha otoño-invierno del año 2008 del estado de Aguascalientes, el cual se mantuvo almacenado en frascos de vidrio herméticamente cerrados y con sílica gel dentro del frasco y en refrigeración a una $T=4^{\circ}\text{C}$, hasta iniciar la experimentación.

Posteriormente, un lote de frijol (5000 g) fue sometido a condiciones de almacenamiento inadecuadas para provocar un deterioro acelerado. Para ello, se utilizó un recipiente con cierre hermético dividido en dos compartimientos con una separación física permeable a la humedad. En uno de los compartimientos se colocó una solución salina preparada con 39.2g de Cloruro de sodio (NaCl) en 100ml de agua desionizada, cuya finalidad fue generar una humedad relativa de 75%. En el otro compartimiento se colocaron los granos (500 g), cuidando que estos no se mojaran con la solución salina. Posteriormente se colocó el recipiente herméticamente cerrado en un horno a 40°C .

Para obtener el frijol con diferentes grados de deterioro se utilizaron distintos tiempos de almacenamiento inadecuado. Las muestras con mayor grado de deterioro se dejaron almacenadas durante 45 días, las de deterioro intermedio permanecieron tan solo 18 días (Méndez, 2003) y un lote de granos no se sometió a deterioro y se denominó como control (Figura 5).

El grado de deterioro se estableció de acuerdo a las especificaciones de la NMX-FF-038-SCFI-2002 y las recomendaciones hechas por Fornos (2009),

que establecen que los tiempos de cocción de frijoles frescos se encuentran en un intervalo de 55-70 min en olla expres; por lo tanto, tiempos mayores de este rango, indican deterioro del frijol, que puede ser provocado por la antigüedad o el manejo postcosecha de los granos, incluido un almacenamiento inadecuado.

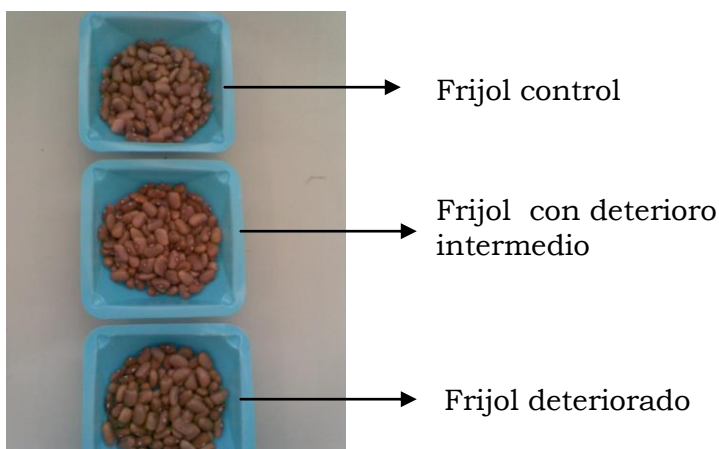


Figura 5. Muestras de frijol almacenado

Las muestras deterioradas se sometieron a un remojo de 18 horas, debido a que la encuesta realizada (ver Anexo) nos indicó que la mayoría de las personas someten al frijol a esta operación previa al cocimiento. El frijol remojado se empleó para determinar los tiempos de cocción.

4.2.2 Determinación del grado de deterioro

El grado de deterioro se estableció con base en el tiempo de cocción del grano, este se evaluó de acuerdo al método propuesto por Varriano-Marston y Jackson (1981). Se utilizó una adaptación del aparato que se conoce como “cocinador Mattson” (Figura 6).

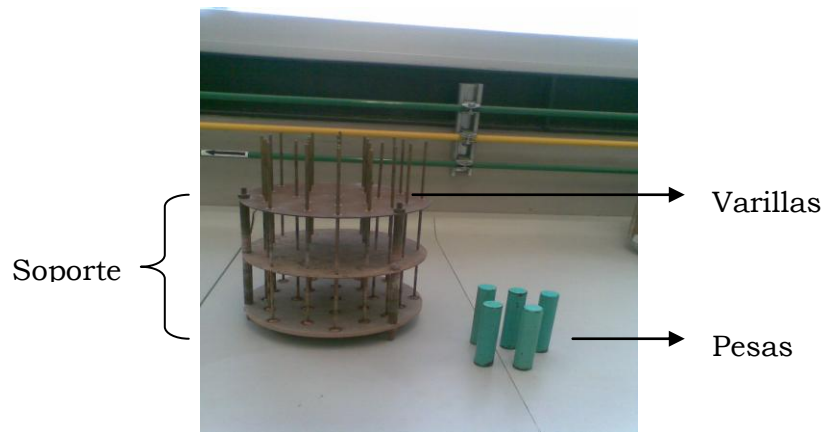


Figura 6. Cocinador Mattson con soporte y accesorios

El cocinador Mattson consiste de un soporte con 25 orificios donde se colocan 25 frijoles, con una varilla encima de cada uno de ellos, más una pesa de 200g (Figura 6) y en el momento que la varilla atraviesa el grano, indica que el frijol esta cocido.

Este soporte se introdujo en una olla de peltre con agua hirviendo y se mantuvo en ebullición (Figura 7), anotando el tiempo en el que cada varilla perforó uno a uno los granos de frijol. El tiempo de cocción (TC_{50}) se determinó cuando el 50% del lote se coció; es decir, cuando el frijol fue perforado por la varilla. (Varriano-Marston y Jackson, 1981). Esto se realizó para los tres lotes de frijol evaluados (control, intermedio y deteriorado).



Figura 7. Cocinador Mattson

4.2.3 Determinación de los tiempos de cocimiento comestible

El tiempo de cocimiento del frijol se obtiene cuando el grano ha adquirido las condiciones sensoriales adecuadas para poder ser consumido, para ello los frijoles se cocinaron hasta presentar una textura pastosa, untosa al tacto y ligeramente grumosa sin presentar centros duros o que los cotiledones se separaran o fragmentaran (NMX-FF-038-SCFI-2002). Para cocer el frijol se emplearon dos métodos, el tradicional en donde se utilizó olla abierta y que es usado principalmente en el área rural y usando olla expres, método más utilizado en zonas urbanas.

4.2.4 Análisis Químico Proximal

El Análisis Químico Proximal se realizó de acuerdo a las técnicas descritas en el AOAC (1995), las determinaciones fueron: humedad (estufa), cenizas (cenizas totales), proteína cruda (Micro Kjeldahl), grasa cruda (Soxhlet), fibra cruda, las cuales se realizaron por triplicado.

Mientras que los carbohidratos asimilables fueron calculados por diferencia:

$$\%CHOS_{as} = 100 - (\%Fibra\ cruda + \%Grasa + \%Humedad + \%Proteínas + \%Cenizas)$$

4.2.5 Evaluación de la calidad proteica

4.2.5.1 Cuantificación de aminoácidos

Fundamento:

Para la cuantificación de aminoácidos en alimentos, debe existir previamente una etapa de hidrólisis. La hidrólisis ácida en fase de vapor (HCl 6N, 0.1% de fenol), es una adaptación que permite incrementar el

rendimiento del proceso de hidrólisis, pues las pérdidas por oxidación de aminoácidos se reduce debido a la combinación de Nitrógeno y vacío durante la preparación de las muestras a hidrolizar, el contacto de HCl gaseoso con la muestra y un control eficiente de la temperatura y tiempo de hidrólisis (145°C, 4 h) (Arrizon-López *et al.*, 1987).

La cuantificación de aminoácido se realizó por medio de un Autoanalizador de aminoácidos Beckman System Gold 6300, Buffers de Sodio Na-EFD y una columna 20cm, flujo 21ml/h.

Procedimiento:

Preparación de la harina:

1. Se pesaron 500 g de frijol de cada uno de los lotes por separado (control, intermedio, deteriorado) tanto crudos como cocidos en olla expres y olla abierta.
2. Se congelaron los cotiledones cocidos con nitrógeno líquido.
3. Se molieron los cotiledones en un molino de cuchillas marca Arthur H. Thomas.
4. Se tamizaron en malla 40 serie Tyler.
5. Posteriormente se liofilizaron las harinas de los frijoles cocidos.
6. Ya preparada la harina se le eliminó la grasa por el método Soxhlet.

Preparación de la muestra (Hidrólisis):

1. Pesar 1-2 mg de harina de frijol desengrasada.
2. Colocar la muestra en los viales y añadir 2 µl de HCl 6N.
3. Cerrar los viales y proporcionarles una atmósfera de nitrógeno a una temperatura de 105°C por 22 h.
4. Se evapora el ácido clorhídrico remanente y las muestras se resuspenden con un amortiguador comercial de dilución de muestra

pH 2.0, en un volumen de 100-700 μL se homogenizan y se filtran a través de membranas Millipore tipo HA 0.45 μm .

Cuantificación de aminoácidos:

1. Una vez terminada la hidrólisis, se dejan enfriar los viales.
2. Filtrar la solución con un embudo.
3. Eliminar el HCl con ayuda de vacío.
4. Analizar los residuos por medio del Autoanalizador de aminoácidos de alta resolución (marca Beckman Instruments, Inc., modelo System 6300).
5. El volumen de inyección es de 50 μL .

4.2.5.2 Cuantificación de Triptófano

Fundamento:

La hidrólisis ácida destruye el triptófano, por lo que se tiene que recurrir a las hidrólisis alcalinas o enzimáticas. Es también el único aminoácido que no se puede cuantificar junto con los demás aminoácidos resultantes de la hidrólisis ácida en equipos como autoanalizador o HPLC, por lo que las técnicas calorimétricas para su cuantificación son múltiples. En este caso se hará una hidrólisis enzimática y se desarrollará color con p-Dimetilaminobenzaldehído (DMAB) y NaNO_2 (nitrito de sodio) como contraste.

Procedimiento:

Preparación de reactivos:

- Pepsina:
 1. Pesar 0.3 g de pepsina.
 2. Aforar con HCl 0.1 N a 100 ml.

3. Guardar en refrigeración.

- Pancreatina:

1. Pesar 0.4 g de pancreatina.
2. Aforar con buffer de fosfatos a 100 ml.
3. Guardar en refrigeración.

- Buffer de fosfatos:

Solución A

Pesar 2.78 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

Solubilizar con agua destilada.

Aforar a 100 ml.

Solución B

Pesar 26.78 de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Solubilizar con agua.

Aforar com 500 ml.

1. Tomar de la solución A 5.3 ml.
2. Tomar de la solución B 94.7 ml.
3. Colocar las cantidades de cada solución en un matraz aforado de 200 ml y aforar con agua destilada.
4. Ajustar a un pH de 8.0.

- DMAB al 0.5%

1. Pesar 0.5 g de DMAB.
2. Aforar a 100 ml con HCl concentrado.

- NaNO_2 al 0.2%

1. Pesar 0.2 g de NaNO_2 .
2. Aforar a 100 ml con agua.

- Solución estándar de Triptófano
 1. Pesar 0.0125 g de Triptófano.
 2. Aforar con agua a 250 ml.

Preparación de la muestra:

1. Pesar 1 g de muestra en un matraz Erlenmeyer.
2. Agregar 10 ml de pepsina; agitar e incubar por 3 horas a temperatura ambiente.
3. Adicionar 10 ml de NaOH 0.1 N y 10 ml de pancreatina, agitar e incubar por 24 horas a temperatura ambiente.
4. Transcurridas las 24 horas aforar a 50 ml con agua destilada.
5. Filtrar dos veces con papel filtro de poro cerrado.
6. Filtrar una vez más con algodón (solución filtrada).
7. De la solución filtrada tomar tres alícuotas de 2 ml cada una y poner en un tubo de ensaye.
8. Un tubo será el blanco de la muestra y se le adicionarán 7.5 ml de HCl concentrado y 0.5 ml de NaNO₂.
9. A los otros dos tubos se le agregan 7.5 ml de DMAB y 0.5 ml de NaNO₂, se agitan y se dejan en reposo por 15 min en la oscuridad.
10. Transcurrido el tiempo, se les agrega a los tres tubos 0.5 ml de nitrito de sodio, se agitan y se dejan 15 min en reposo.

Lectura en el espectrofotómetro:

1. Ajustar el espectrofotómetro marca Beckman DU-450 a $\lambda=590$ nm (Figura 8).
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero con el blanco de la curva estándar de triptófano.
3. Leer el tubo 1, esta lectura será la del blanco de la muestra.

4. Leer los tubos 2 y 3. Estas lecturas serán de la muestra y se realiza un promedio.



Fig. 8. Espectrofotómetro Beckman DU-450

Cálculos:

$$A = \epsilon C l$$

Donde:

A= Absorbancia

ϵ = Absortividad molar

C= Concentración

l = ancho de la celda = 1cm

Y de la ecuación de la línea recta se sustituyen los valores en la ecuación de la absorbancia:

$$y = mx + b$$

Donde:

A= Y= Absorbancia de la muestra

C= x= Concentración de triptófano en la muestra

ϵ = m= Pendiente de la curva estándar (ϵ)

b= Ordenada al origen de la curva estándar

$$x = \frac{y - b}{m}$$

A los tubos problema se les resta la absorbancia del blanco de la muestra y el resultado se interpola en la curva estándar, considerando el aforo y la alícuota empleados.

Los resultados se reportan en g de triptófano/100 g muestra.

4.2.5.3 Digestibilidad “*in Vitro*”

Fundamento:

Se ha desarrollado un método *in Vitro* utilizando un sistema multienzimático para determinar la digestibilidad de proteínas. El sistema multienzimático esta compuesto por tripsina, quimiotripsina y peptidasa. Se encontró que el pH de una proteína en suspensión inmediatamente después de 20 minutos de digestión con la solución multienzimática tiene una gran correlación con la digestibilidad *in vivo* de ratas. El coeficiente de correlación entre el pH a los 20 minutos y la digestibilidad aparente *in vivo* es de 0.90, con un margen de error estimado de 2.23. La ecuación de la regresión obtenida experimentalmente es:

$$\%D = 234.84 - 22.56103 X$$

Donde X es el pH de la suspensión de proteína registrado inmediatamente después de 20 minutos de la digestión con la solución multienzimática (AOAC, 1982).

Procedimiento:

Suspensión acuosa de proteína:

1. Tomar 10 ml de suspensión acuosa de proteína y mantenerla a una temperatura de 37°C en un baño de agua.
2. Tomar 1 ml de solución multienzimática (A) y adicionarlos a la suspensión de proteína, manteniendo la temperatura a 37°C.
3. A los 10 minutos que se adicionó la solución (A), cambiar la temperatura del baño de agua a 55°C y adicionar 1 ml de solución (B).
4. A los 19 minutos de que se le adicionó la solución (A), cambiar la temperatura del baño a 37°C, así como introducir el potenciómetro en el cartucho.
5. Registrar el pH a los 20 minutos.
6. Calcular el porcentaje de digestibilidad.

4.2.6 Determinación de Taninos

Fundamento:

Se basa en la extracción de los taninos hidrolizables y condensados (fenoles totales) mediante Dimetilformamida (DMF) al 75%, y la posterior reducción del ión férrico debida a los iones polifenoles con la subsiguiente formación de un complejo colorido en condiciones alcalinas, cuantificado espectrofotométricamente a λ 525 nm. (Del Pino, 2003; ISO 9648, 1988)

Procedimiento:

Preparación de la Curva patrón:

1. En cinco matraces volumétricos de 25 ml añadir alícuotas de 1, 2, 4, 6 y 7ml de solución estándar de ácido tánico en cada uno.
2. Aforar cada uno a 25 ml con solución Dimetilformamida (DMF).
3. Rotular 6 tubos de ensaye. Al tubo 1 se coloca 1ml de la solución DMF, 6ml de agua y 1ml de amoniac; mientras que a los tubos de

2-6 se coloca 1 ml de los reactivos de citrato férrico de amonio y amoniaco.

4. Agitar con vortex.
5. Después de 10 minutos realizar la lectura.
6. Leer la absorbancia a 525 nm.
7. Realizar la curva correspondiente (Absorbancia vs concentración de solución estándar)
8. Realizar la regresión lineal.

Preparación de la muestra:

1. Pesar 1g de muestra molida y desengrasada en un vaso de precipitados.
2. Adicionar 25 ml de solución de Dimetilformamida (DMF).
3. Agitar en una parrilla durante 1 hora (Figura 9).



Fig. 9 Parrilla de agitación con muestra

4. Dejar reposar durante 15 min.
5. Transferir el sobrenadante a un tubo de centrifuga.
6. Centrifugar a 5000 rpm durante 20 min (Figura 10).



Fig. 10. Centrifuga IEC Centra 4B

7. Tomar la muestra del sobrenadante.
8. Preparar los tubos como se indica en la Tabla 9 y hacerlo por triplicado:

Tabla 9. Diluciones para la determinación de taninos

Tubo	Alicuota del matraz (ml)	H₂O destilada (ml)	Citrato férrico amoniacal (ml)	Amoniacal (ml)
Blanco	---	6	---	1
1	1	5	1	1
2	1	5	1	1
3	1	5	1	1
4	1	5	1	1
5	1	5	1	1
6	1	5	1	1
7	1	5	1	1
8 Frijol	1 ml del sobrenadante	5	1	1

9. Leer la absorbancia a 525 nm.

Cálculos:

$$A = \epsilon C l$$

Donde:

A= Absorbancia

ϵ = Absortividad molar

C= Concentración

l= ancho de la celda = 1cm

1. Despejar de la ecuación de la línea recta ($y = mx + b$) a "x" y sustituir con los valores obtenidos:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Donde:

A= Y= Absorbancia de la muestra

C= x= Concentración de taninos en la muestra

ϵ = m= Pendiente de la curva estándar (ϵ)

b= Ordenada al origen de la curva estándar

2. Para obtener el porcentaje de taninos, sustituir el resultado de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Taninos} = \frac{VF}{P} \times C$$

Donde:

VF= Volumen final al que se lleva la muestra para obtener el extracto

P= Peso de la muestra

C= Concentración de ácido

4.2.7 Determinación de Inhibidores de Tripsina

Fundamento:

La técnica se basa en poner en contacto el extracto acuoso o diluido de una muestra con una solución estándar de tripsina, posteriormente se determina la actividad proteolítica remanente utilizando un sustrato sintético (benzoil-arginina-p-nitroanilida) (BAPNA), el cual producirá coloración, que es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de tripsina y que se lee en el espectrofotómetro a una $\lambda=410$ nm (Kakade *et al.*, 1974).

Procedimiento:

Preparación del extracto:

1. Pesar 1 g de muestra molida y desengrasada, adicionarle 45ml de NaOH 0.01N; se ajusta el pH a 9.6 ± 0.2 y se afora a 50 ml con NaOH 0.01 N, se pasa a un vaso de precipitado que contenga un agitador magnético, agitar por un tiempo de 2 hr con 30 min a 300 rpm. Después se deja en reposo por un tiempo de 30 min para obtener el sobrenadante.
2. El sobrenadante debe ser diluido hasta el punto de que 1ml produzca inhibición de 40-60%.
3. Dilución de la muestra relación 1:3 con muestra y NaOH 0.001 N.

Determinación de la actividad:

1. Porciones de 0, 0.6, 1, 1.4, y 1.8 ml de extracto directo o diluido son pipeteados a tubos de ensaye ajustado el volumen a 2.0 ml.
2. Adicionar 2 ml de solución estándar de tripsina con H₂O destilada y agitar. Se mantiene en contacto inhibidor de tripsina-tripsina por 10 min en un baño de 37°C.

3. Adicionar 5ml de solución Benzoil-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) a cada tubo y se mantiene dicha mezcla de reacción por 10 minutos en el baño. La reacción enzimática se detiene por la adición de 1ml de ácido acético al 30%, el cual debe ser agitado.
4. Cuando al adicionar del ácido acético al tubo de reacción, este se enturbie o forme precipitado, será necesario filtrar el contenido a través de papel filtro, para ello es necesario dejar el tubo en reposo por 5 min. El filtrado deber ser transparente.
5. A estos tubos, una vez adicionados los 2.0 ml de la solución de tripsina inmediatamente después se adiciona 1.0ml de ácido acético al 30% y por último de 5.0 ml de solución BAPNA.
6. La lectura en el espectro se realiza a λ 410 nm.

Cálculos:

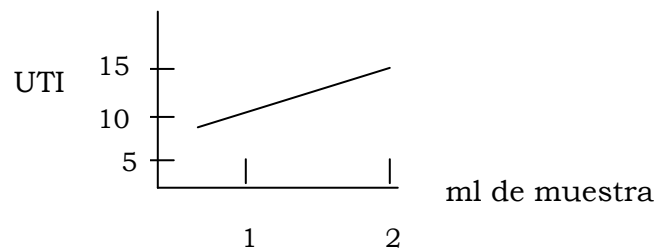
UT: Unidades de Tripsina

$$UT = \lambda \times 100$$

UTI: Unidades de Tripsina Inhibida

$$UTI = \text{Blanco} - c/u \text{ de los tubos}$$

$$\text{Inhibición} = \frac{(UTI \times 100)}{\text{Blanco} \times (UT)}$$



$$B \times \text{Factor} \times \frac{(\text{volumen aforo muestra})}{\text{mg de muestra}} = \frac{\text{UTI}}{\text{mg de muestra}}$$

4.2.8 Determinación de ácido fítico

Fundamento:

En el método tradicional el ácido fítico es precipitado como fitato férrico. El precipitado es separado y lavado, posteriormente se determina el fósforo contenido después de la hidrólisis. El ácido fítico contenido es calculado a partir del contenido de fósforo. La disminución del hierro (determinada colorimétricamente con 2,2-Bipiridina) en el sobrenadante es la medida del contenido de ácido fítico (Haug, 1983).

Procedimiento:

Preparación de reactivos:

- Solución de referencia:
 1. Pesar 0.15 g de ácido fítico y aforarlo a 100 ml con agua destilada.
 2. Diluir la solución en un rango de 0.1 a 1 ml con 10 ml de HCl 0.2 N como se indica a continuación:

Tabla 10. Diluciones para la elaboración de la solución de referencia de ácido fitico

Ác. fitico (ml)	HCl 0.2 N (ml)	Concentración (μg de P de ác. fitico/ml)
0.1	9.9	3
0.2	9.8	6
0.4	9.6	12
0.6	9.4	18
0.8	9.2	24
1	9.0	30

Procedimiento de la curva patrón:

1. Tomar 1 ml de cada una de las soluciones de ácido fitico diluidas con HCl 0.2 N y colocarlos en un tubo de ensaye.
2. Adicionar 1 ml de solución férrica a cada tubo.
3. Preparar un blanco sin adicionar la solución de ácido fitico.
4. Tapar los tubos.
5. Calentarlos a una temperatura de $95 \pm -2^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.
6. Enfriar los tubos con agua helada hasta que alcancen la temperatura ambiente.
7. Una vez que se encuentran a temperatura ambiente adicionar 2 ml de 2,2-Bipiridina y agitar.
8. Leer la absorbancia $\lambda=519$ nm exactamente 30 segundos después de que se le adicionó la 2,2-Bipiridina.

Tabla 11. Diluciones para la elaboración de la curva patrón de ácido fítico

Tubo	Soluciones de ác. Fítico	Solución férrica (ml)	Agua (ml)
1	1(Conc. 3 µg de P del ác. Fítico)	1	---
2	1(Conc. 6 µg de P del ác. Fítico)	1	---
3	1(Conc. 12 µg de P del ác. fítico)	1	---
4	1(Conc. 18 µg de P del ác. fítico)	1	---
5	1(Conc. 24 µg de P del ác. fítico)	1	---
6	1(Conc. 30 µg de P del ác. fítico)	1	---
Blanco	---	1	1

Preparación de la muestra:

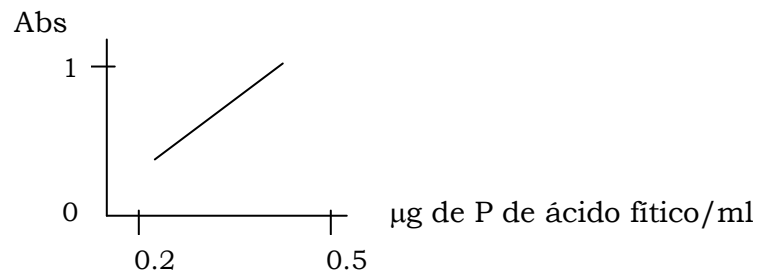
1. Extraer 0.1 g de muestra con 20 ml de HCl 0.2 N durante 20 minutos manteniendo en agitación constante y centrifugar a 3000 rpm durante 15 minutos.
2. Tomar 0.5 ml de extracto y colocarlos en un tubo de ensaye.
3. Adicionar 1 ml de solución férrica.
4. Tapar el tubo de ensaye con parafilm.
5. Calentar el tubo en un baño maría durante 30 minutos a $95 \pm -2^{\circ}\text{C}$.
6. Enfriar el tubo con agua helada por 15 minutos hasta alcanzar la temperatura ambiente.
7. Adicionar 2 ml de solución de 2,2-Bipiridina y agitar.
8. Leer la absorbancia a 519 nm 30 segundos después de que se le adicionó la solución de 2,2-Bipiridina (Mendoza, 1991).

Cálculos:

1. Obtener las absorbancias tanto de la curva patrón como de la muestra.
2. Después de haber obtenido las absorbancias, obtener la absorbancia corregida:

$$\text{Abs}_c = \text{Blanco} - \text{Absorbancia leída}$$

3. Obtener r, b y m, a partir de la regresión lineal μg de P de ácido fitico/ml vs absorbancia corregida.



4. De la ecuación de la recta, despejar x:

$$x = \frac{(y - b)}{m}$$

5. Sustituir los valores obtenidos, donde:

y= Absorbancia corregida

b= Ordenada al origen

m= Pendiente de la curva

6. Realizar los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{g de muestra}}{\text{ml de HCl}} = \frac{\text{g de muestra}}{\text{ml}}$$

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Determinación del grado de deterioro

El deterioro del frijol durante un almacenamiento inadecuado aumenta el tiempo de cocción del grano (Shiga, 2003). Al trabajar con frijoles que tuvieran diferente grado de deterioro, los tiempos de cocción de los tres lotes empleados fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) como se puede observar en la Tabla 12.

Tabla 12. Tiempo de cocción de frijol Flor de Mayo fresco y con diferente grado de deterioro.

Grado de deterioro del frijol	TC₅₀ (minutos)
Control	62±6.46 a**
Intermedio	96±2.00 b
Deteriorado	*N. C. c

*N.C. Los frijoles no se cocieron después de seis horas de tratamiento térmico.

** Diferentes letras entre filas indican una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

Por lo tanto, se confirmó que teníamos tres materiales diferentes; uno fresco que sirvió como control, otro con un alto grado de deterioro, ya que no se logró cocer ni después de seis horas en el equipo Mattson y que sería contrastante con el control y uno con un grado de deterioro intermedio, que se utilizó para determinar la magnitud del efecto del deterioro sobre la calidad nutrimental del frijol Flor de Mayo (Tabla 12).

5.2 Determinación de los tiempos de cocimiento culinario de los diferentes lotes de frijol

Para evaluar el efecto del deterioro sobre la calidad nutrimental del frijol, se cocieron los tres lotes que se tenían; por medio de dos formas usadas comúnmente en México para cocinar los frijoles: en olla abierta como se usa en medio rural y olla expres como se usa en medio urbano en los tiempos

necesarios para que los frijoles fueran comestibles, para ello se realizó una encuesta (ver anexo) en la que los resultados mostraron que el tiempo aproximado de cocción del frijol cocido en olla expres era de 46-60 min (control), mientras que los cocidos en olla abierta la encuesta concluía que el tiempo de cocción era de 120 min; de cualquier manera, se decidió evaluar el frijol cada 20 minutos, mediante el análisis sensorial como lo indica la Norma Mexicana (NMX-FF-038-SCFI-2002), para asegurar que estuviera bien cocidos.

Tabla 13. Métodos de cocción y tiempos de cocimiento comestible

Método de cocción	Grado de deterioro	Tiempos de cocimiento (min)
Olla Expres	Control	35 a *
	Intermedio	60 b
	Deteriorado	75 c
Olla abierta	Control	180 a
	Intermedio	300 b
	Deteriorado	360 c

*Diferentes letras, para un mismo método de cocción, indican una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Como se observa en la Tabla 13, los tiempos de cocimiento fueron diferentes a los que mostraron la encuesta y esto es lógico porque estos cambian dependiendo de la variedad del frijol y el grado de cocimiento del mismo (Pérez *et al.*, 2002). Por otra parte, los tiempos de cocimiento en olla expres, fueron menores comparados con olla abierta, pues el control de presión aumenta la intensidad del tratamiento térmico. En el control se observó una reducción en el tiempo de cocción de 80.5%, en el intermedio 80% y en el deteriorado 79.15% con respecto al cocimiento en olla abierta (figura 11). Estos resultados coinciden con otros reportes (Hincks, 1987) en los que indica que durante la cocción el frijol ya no absorbe agua debido al deterioro lo cual daña a la pared celular, afectando la gelatinización del almidón y subsecuentemente aumenta los tiempos de cocción. Podemos observar que el tratamiento térmico necesario para lograr el cocimiento de los frijoles, fue directamente proporcional al nivel de deterioro que sufrió el grano, es decir, a mayor deterioro, mayor tiempo de

tratamiento térmico, independientemente del método de cocción empleado, y estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$).

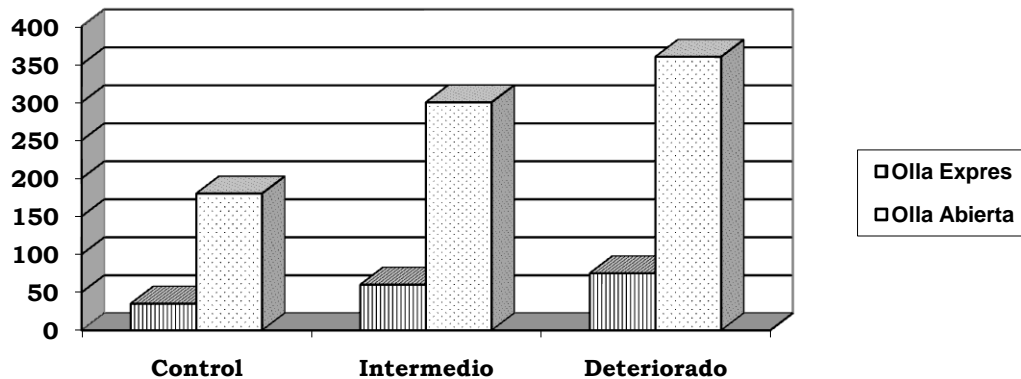


Figura 11. Métodos de cocción y tiempos de cocimiento comestible

5.3 Análisis Químico Proximal

Los resultados del análisis químico proximal de los frijoles con diferentes grados de deterioro, y métodos de cocción se muestran en la Tabla 14. En la que podemos observar que en general el grado de deterioro tuvo un efecto mínimo en la composición química del frijol pues no hay diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre los lotes evaluados. Es importante señalar que, la humedad de las muestras cocidas disminuyó considerablemente con respecto al control, pero esto se debió a que estas muestras se secaron mediante liofilización para poder molerlas y no al efecto del deterioro. En la proteína cruda que es de especial interés, no se encontró diferencia significativa entre los lotes, pero si hubo una ligera pérdida por el tratamiento térmico más fuerte dado en la cocción con olla abierta, entre el lote intermedio con respecto al deteriorado (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis Químico Proximal de frijoles crudos y cocidos (control y deteriorados)

Tratamiento térmico	Grado de deterioro	Humedad (%)	Cenizas (%)	Grasa (%)	Proteína cruda (%)	Fibra cruda (%)	CHOS (%)
Sin cocer	Control	11.76 ± 0.45 a	4.03 ± 0.05 a	2.35±0.4 a	16.9±0.43 a	4.28±0.36 a	60.68
	Intermedio	10.88 ± 0.25 a	4.36 ± 0.13 a	2.27±0.61 a	15.7±1.45 a	2.99±0.04 a	63.8
	Deteriorado	13.42 ± 0.12 a	4.56 ± 0.08 a	2.35±0.45 a	16.7±0.77 a	3.79±0.51 a	59.18
Cocción en Olla Expres	Control	3.23±0.14 b	2.32±0.06 b	2.09±0.23 a	18.9±0.28 a	5.01±1.19 b	68.45
	Intermedio	3.82±0.04 b	2.0±0.03 b	1.98±0.20 a	19.1±0.29 b	7.3±1.07 c	65.8
	Deteriorado	3.45±0.24 b	2.1±0.02 b	1.89±0.35b	18.6±0.55 a	6.3±1.18 b	67.66
Cocción en Olla Abierta	Control	5.24 ± 0.33 c	2.7±0.53 b	5.1 ±0.5 b	17.4±0.40 a	6.3±0.48 b	67.48
	Intermedio	5.79 ± 0.10 c	2.2±0.10 b	5.0±0.1 b	15.9±0.26 a	6.99±0.33 c	68.29
	Deteriorado	5.98 ± 0.29 c	2.0±0.08 b	0.62±0.4 b	15.3±0.15 a	7.38±0.35 c	68.72

Los datos representan los promedios ± desviación estándar de triplicados.

* Diferentes letras entre renglones indica diferencias estadísticamente significativas (P≤ 0.05)

Los cambios se dieron principalmente por el tipo de tratamiento térmico que se aplicó, por ejemplo, se pudo observar una disminución estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en el contenido de grasa en las muestras cocidas en olla abierta, comparados con las cocidas en olla expres, seguramente por el mayor tratamiento térmico a que fueron sometidas estas muestras (5 veces más tiempo de cocción, tabla 10) lo que pudo provocar degradación química de las grasas y su solubilización en el agua de cocción (Bilbao, 2000).

También en el porcentaje de cenizas presentó una disminución en las muestras cocidas, ya que de acuerdo con Hincks (1987) la pérdida de las cenizas se debe a la falta de la integridad de la membrana celular, por lo tanto, esta disminución de las cenizas en el frijol Flor de Mayo pudo deberse a una solubilización parcial de los minerales por un aumento en la permeabilidad de las membranas celulares, provocada por el tratamiento térmico, algo que se había probado en estudios previos dentro del grupo de trabajo (Cadena, 2007).

Algo interesante que se observó fue el aumento de la fibra cruda en las muestras deterioradas y cocidas por los dos métodos. Esto probablemente se debió a un aumento en la fibra insoluble por modificaciones sufridas en la pared celular, pues se ha reportado (Shomer, 1990) que el deterioro genera una pared celular más rígida que disminuye su solubilización y aumenta su temperatura de cocción.

Otra posible explicación del aumento en la fracción de fibra cruda podría ser, la formación de almidón resistente (fibra insoluble). La formación de almidón resistente por efecto de la temperatura pudo contribuir al incremento de la fracción insoluble esto de acuerdo con los trabajos reportados por Bilbao (2000) en los que observa la formación de este tipo de almidón.

Por lo tanto, podemos decir que, el deterioro no tiene una influencia importante sobre la composición química del frijol Flor de Mayo pero el método de cocción si tendría un efecto en la concentración de grasas y cenizas.

Por otra parte, se observó que el deterioro sí influyó en el contenido de fibra cruda. Esto es importante resaltarlo, porque la pared celular del frijol deteriorado al volverse más rígida pudiera proteger a los compuestos antinutrimientales de su inactivación o solubilización por calor.

5.4 Evaluación de la calidad proteica

5.4.1 Cuantificación de aminoácidos

Al realizarse el análisis de perfil de aminoácidos, para evaluar el efecto del deterioro sobre la calidad de la proteína del frijol, se encontró que el deterioro afecta la composición de aminoácidos en los diferentes lotes evaluados. En todos los casos el tratamiento térmico disminuyó la concentración de aminoácidos, pero esta disminución fue dependiente del tipo de aminoácido y del grado de deterioro del frijol (Tabla 15).

En el análisis de los aminoácidos esenciales (Tabla 16), encontramos que las mayores pérdidas se observaron en la muestra con mayor deterioro (deteriorado), y con el tratamiento térmico más drástico (olla abierta). Es importante destacar que la Lisina disminuyó en casi cinco veces su concentración en el frijol deteriorado en olla abierta (360 min de cocción), mientras que en el frijol con deterioro intermedio (300 min de cocción) la disminución fue de aproximadamente 2.5 veces mientras que el control disminuyó 2.4 veces, con respecto al frijol crudo. Esto es relevante, porque la Lisina es uno de los principales atributos de calidad nutricional del frijol.

Otro de los aminoácidos esenciales que se perdió drásticamente con el deterioro y la cocción en olla abierta fue la Fenilalanina, aproximadamente disminuyó 4 veces en los materiales deteriorados (360 min de cocción), en el intermedio (300 minutos) disminuyó 3.8 veces y el control disminuyó casi 2 veces, con respecto a los crudos (75 min de cocción). Isoleucina, Leucina, Valina y Treonina se perdieron aproximadamente 2.5 veces con respecto a los crudos.

Por otra parte, se puede decir que, el efecto del deterioro en el tratamiento térmico con olla abierta, se observó principalmente en Lisina, pues las pérdidas fueron de un 50% del lote deteriorado (360 min de cocción) respecto al fresco cocido en olla abierta (180 min de cocción). Igualmente en Triptófano hubo 50% de pérdida, mientras que Treonina aproximadamente 30% y Valina, Isoleucina y Leucina alrededor de 10%.

Por lo tanto, es importante señalar que el grado de deterioro, que provocó el aumento en los tiempos necesarios para la cocción del frijol, sí generó pérdidas en la concentración de aminoácidos esenciales en el grano y de manera importante en Lisina y Triptófano. Esto es más relevante si consideramos lo siguiente: que el frijol tiene el 67% de la lisina que recomienda la FAO (2009) como consumo diario; y que, como consecuencia del deterioro, el porcentaje de lisina disminuyó por la cocción en olla expres al 50.4%, y por cocción en olla abierta al 40.18% del recomendado por la FAO, lo que significa que hubo una disminución del 77% de la lisina en el frijol sometido a cocción en olla abierta (deteriorado). Para el Triptófano, se tuvo una disminución del 75.2% al someterse a cocción en olla abierta (FAO, 2009).

Tabla 15. Composición de aminoácidos del frijol Flor de Mayo

Aminoácido	Crudo			Cocido en olla Expres			Cocido en olla abierta		
	Control	Intermedio	Duro	Control	Intermedio	Duro	Control	Intermedio	Duro
Aspártico	1.80a	1.97a	1.72a	0.93b	0.92b	1.13b	0.84b	0.99c	0.76c
Prolina	0.46a	0.38a	0.34a	0.27b	0.22b	0.29b	0.45a	0.24a	0.09c
Glicina	0.73a	0.81a	0.75a	0.43b	0.37b	0.46b	0.37b	0.45a	0.38b
Valina	0.48a	0.63a	0.60a	0.37a	0.34b	0.42b	0.27b	0.31b	0.22c
Treonina	0.57a	0.65a	0.64a	0.28b	0.23b	0.35b	0.27b	0.27b	0.19c
Alanina	0.83a	0.90a	0.85a	0.46a	0.41b	0.50b	0.39a	0.49b	0.38b
Cistina	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serina	0.78a	0.92a	0.90a	0.42b	0.36b	0.48a	0.36b	0.37b	0.28b
Metionina	0.04a	0.01a	0	0	0	0	0	0	0
Isoleucina	0.66a	0.67a	0.64a	0.35b	0.28b	0.43b	0.30b	0.34b	0.27c
Leucina	1.10a	1.22a	1.22a	0.67b	0.57b	0.80b	0.61b	0.66a	0.53b
Tirosina	0.29a	0.41a	0.41a	0.21a	0.16b	0.22b	0.20a	0.20b	0.19b
Fenilalanina	0.78a	0.89a	0.87a	0.48b	0.42b	0.53b	0.4b	0.23c	0.18c
Histidina	0.31a	0.34a	0.32a	0.20b	0.17b	0.22b	0.16c	0.17c	0.13c
Lisina	1.07a	1.07a	1.18a	0.54b	0.5b	0.59b	0.43c	0.40c	0.25c
Arginina	0.63a	0.91a	0.91a	0.37b	0.33b	0.40a	0.35b	0.34a	0.31b

Diferentes letras entre columnas, para los diferentes métodos de cocción, indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

Tabla 16. Composición de aminoácidos esenciales de frijol Flor de Mayo crudos y cocidos, incluyendo al Triptófano.

Aminoácido Esencial	Crudo			Cocido en olla Expres			Cocido en olla abierta		
	Control	Intermedio	Deteriorado	Control	Intermedio	Deteriorado	Control	Intermedio	Deteriorado
Lisina	1.07a	1.07a	1.18a	0.54b	0.5b	0.59b	0.43c	0.40c	0.25c
Isoleucina	0.66a	0.67a	0.64a	0.35b	0.28b	0.43b	0.30b	0.34b	0.27c
Leucina	1.10a	1.22a	1.22a	0.67b	0.57b	0.80b	0.61b	0.66b	0.53c
Valina	0.48a	0.63a	0.60a	0.37a	0.34b	0.42b	0.27b	0.31b	0.22c
Treonina	0.57a	0.65a	0.64a	0.28b	0.23b	0.35b	0.27b	0.27b	0.19c
Fenilalanina	0.78a	0.89a	0.87a	0.48b	0.42b	0.53b	0.4b	0.23c	0.18c
Tirosina	0.29a	0.41a	0.41a	0.21a	0.16b	0.22b	0.20a	0.20b	0.19b
Triptófano	0.085a	0.086a	0.092a	0.064b	0.063b	0.07b	0.057c	0.059c	0.057c

*La concentración de aminoácidos esta dada en gramos de aminoácidos por 100 gramos de muestra

Diferentes letras entre columnas, para los diferentes métodos de cocción, indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$).

5.4.2 Digestibilidad *in Vitro* de proteína

Como se esperaba y ha sido reportado por Del Pino (2003), la digestibilidad *in vitro* de la proteína del frijol, aumentó significativamente con el tratamiento térmico con respecto al frijol crudo, esto se debe a que durante la cocción se desnaturalizan las proteínas debido a las altas temperaturas, haciéndose de esta manera más disponibles y fácilmente hidrolizables por las enzimas digestivas.

Pero el grado de deterioro prácticamente no afectó la digestibilidad, pues no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los materiales deteriorados y el fresco en los tres tratamientos, esto está de acuerdo con lo que describe Tovar *et al.*, (2006) que menciona que la rigidez y la resistencia de la pared celular no influye en la digestibilidad de la proteína.

Tabla 17. Digestibilidad de proteínas en frijol con diferente grado de deterioro y método de cocción.

Método de cocción	Grado de deterioro	Digestibilidad (%)
Crudos	Control	69.69 a
	Intermedio	70.2 a
	Deteriorado	69.8 a
Olla Expres	Control	82.55 b
	Intermedio	82.55 b
	Deteriorado	82.34 b
Olla Abierta	Control	83.6 c
	Intermedio	83.45 c
	Deteriorado	83.12 c

* Diferentes letras entre filas, indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Como se observa en la Tabla 17, el mayor porcentaje de digestibilidad se obtuvo en los frijoles cocidos en olla abierta, ya que este es un tratamiento térmico más drástico, y como lo menciona Brenes (1993), se ha confirmado que el tratamiento térmico mejora el valor nutritivo de las proteínas vegetales y el mecanismo de acción de este fenómeno puede estar basado

en que facilita el acceso de las enzimas digestivas a los nutrientes, especialmente a las proteínas. Pero hay que considerar, las pérdidas de aminoácidos generada por un tratamiento térmico excesivo (Sievwright, 1986).

Por lo tanto, se puede decir que, aunque la digestibilidad aumentó con el tratamiento térmico, esto provocó daños en los aminoácidos, principalmente los esenciales como Lisina y en consecuencia se puede concluir que hubo una disminución en la calidad de la proteína, provocada por el deterioro del frijol.

5.5 Determinación de Taninos

Como se muestra en la Tabla 18, el porcentaje de ácido tánico disminuyó en las muestras sometidas a un tratamiento térmico, aproximadamente bajó 2.4 veces con el tratamiento en olla expres y 2.8 veces en olla abierta, estos resultados coinciden con lo reportado por González (2001), que observó que los taninos disminuyeron en el frijol sometido a tratamiento térmico, porque aumentaba su solubilización en el agua de cocción.

Tabla 18. Porcentaje de ácido tánico en frijol con diferente grado de deterioro, crudo y cocido.

Método de cocción	Grado de deterioro	Taninos (%)
Crudos	Control	0.42 a
	Intermedio	0.464 a
	Deteriorado	0.464 a
Olla Expres	Control	0.107 b
	Intermedio	0.207 b
	Deteriorado	0.195 b
Olla abierta	Control	0.156 c
	Intermedio	0.161 c
	Deteriorado	0.163 c

*Diferentes letras entre filas, indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Comparando los distintos grados de deterioro, se observó un ligero incremento en el porcentaje de ácido tánico en las muestras deterioradas; aunque no existen diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) entre los valores de dichos porcentajes, el aumento en el tratamiento en olla expres, fue de aproximadamente un 90% para los frijoles con deterioro intermedio y para el deteriorado fue de 80%. Lo que nos sugiere una menor solubilización de taninos provocada por el deterioro. Estos resultados concuerdan con otros estudios y reportes que indican la formación de enlaces y/o polimerización de estos compuestos, provocados por el almacenamiento inadecuado (Shiga, 2004; Del Pino, 2003).

En el tratamiento en olla abierta no se ven esas diferencias, posiblemente debido a que el tratamiento térmico es tan drástico, que alcanza a romper los enlaces químicos formados durante el almacenamiento, pues hay que recordar que el tratamiento térmico siguió hasta que los frijoles fueron cocidos. Es importante señalar que el porcentaje de taninos determinado en los frijoles cocidos no serán un problema para la salud de quien los consume, pues se ha reportado que sólo valores mayores a 5% pueden tener efectos antinutrimientales (Flores, 2003).

5.6 Determinación de Inhibidores de Tripsina

El efecto observado en el contenido de inhibidores de Tripsina por el deterioro del frijol fue nulo, ya que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de los tres materiales crudos. Tampoco se observaron cambios en la sensibilidad a su inactivación por calor en los diferentes materiales deteriorados pues en todos los casos la inactivación fue al 100% (Tabla 19), ya que como ha sido sugerido por Bonilla (1991) y otros autores (Desphande, 2002; Urbano, 2003; Valle, 2000), estos

factores antinutrimientales son los que por su termolabilidad están más expuestos a ser inactivados por los tratamientos térmicos.

Tabla 19. Inhibidores de Tripsina presentes en frijol crudo.

Muestra (Frijol Flor de Mayo)		UTI/mg muestra
Crudos	Control	16.75 a*
	Medio	15.20 b
	Deteriorado	14.30 b
Olla abierta		No se detectaron
Olla Expres		No se detectaron

*Diferentes letras entre filas, en el mismo tratamiento indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

Estos datos nos muestran que las posibles modificaciones generadas a nivel molecular, como se ha sugerido que sucede por un mal almacenamiento, por ejemplo en pared celular (Hentges, 1991), taninos, etc., que pueden aumentar la rigidez del tejido y podrían proteger de la inactivación a estas proteínas, realmente no lo hicieron.

5.7 Determinación de Ácido Fítico

En la cuantificación de ácido fitico se observó que la concentración disminuyó conforme aumento el grado de deterioro, esto podría atribuir al daño de la capa aleurona provocado por el deterioro y/o los tiempos de cocción más prolongados, ya que es la parte en la que se encuentra el ácido fitico en el grano (Hentges, 1991; Tabla 20).

Tabla 20. Concentración de ácido fítico en muestras de frijol con diferente grado de deterioro

Tratamiento Térmico	Grado de deterioro	% Ácido fítico
Crudos	Control	0.49 a*
	Intermedio	0.41 b
	Deteriorado	0.36 b
Olla Expres	Control	0.40 a
	Intermedio	0.32 b
	Deteriorado	0.21 c
Olla Abierta	Control	0.39 a
	Intermedio	0.29 b
	Deteriorado	0.27 b

*Diferentes letras entre filas, en el mismo tratamiento indican diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$)

El menor contenido de Ácido Fítico fue encontrado en las muestras deterioradas, tanto en las cocidas en olla expres como en olla abierta, fue de entre 20-35% con referencia al control, posiblemente se debió al daño en membrana celular generado por el deterioro del grano y por esto aumenta su solubilización, aunado al daño del depósito de Ácido Fítico en el grano, estos resultados son similares a otros trabajos (Siewwright, 1986; Bernal-Lugo, 1990), ya que ambos estudios concuerdan que el almacenamiento inadecuado provoca la rápida disminución de Ácido Fítico. Mientras que Brenes (1993) indica que el Ácido Fítico es inactivado por el tratamiento térmico y su inactivación dependerá de la temperatura alcanzada en el tratamiento térmico.

6. CONCLUSIONES

De la encuesta realizada se pudo comprobar que se sigue empleando el método de cocción de frijoles en olla abierta y que independientemente del método de cocción se remojan los granos previamente. También sirvió para tener una referencia del tiempo de remojo y de cocción de los frijoles.

El deterioro del frijol Flor de Mayo provocó un aumento en el tiempo de cocción culinario, a mayor grado de deterioro mayor tiempo de cocción. El efecto fue mayor con el método de cocción en olla abierta, aumentando alrededor de un 80% en comparación con olla expres.

El efecto del deterioro del frijol Flor de Mayo sobre su composición química fue mínimo. Sólo tuvo influencia en la fibra cruda, en la cual, se observó un aumento con respecto al grado de deterioro, en el sometido a cocción en olla expres tuvo un aumento de 39.8% y en olla abierta fue de 48.6%. Por otra parte, el método de cocción tuvo un efecto negativo en la concentración de grasas y cenizas.

La calidad de la proteína del frijol sí se vió afectada negativamente por el deterioro, pues provocó una disminución en la concentración de aminoácidos, pero esta disminución fue dependiente del tipo de aminoácido y del grado de deterioro. De los aminoácidos esenciales los más afectados fueron la Lisina y el Triptófano, siendo la Lisina la de mayor importancia, ya que este aminoácido es una cualidad nutrimental importante del frijol.

El aumento en el deterioro del frijol no evitó la solubilización de taninos y ácido fítico durante su cocción y tampoco la inactivación de los inhibidores de tripsina. Esto significa que, los cambios provocados por un mal almacenamiento del frijol Flor de Mayo no sirvieron de protección a los factores antinutrimientales evaluados en este trabajo. Finalmente, podemos decir que el deterioro provocado por un mal almacenamiento del frijol Flor de Mayo afectó negativamente su Calidad Nutrimental.

7. REFERENCIAS

- Arias R. J., Rengifo M. T., Jaramillo C. M. (2007) **Buenas Prácticas Agrícolas en la producción de frijol voluble**. FAO, Colombia.
- Arrizon-López V., Slocum R., Lee P. (1987). **Expanded protein hydrolyzate analysis, System 6300/7300**. Application Notes No. A630-AN-007., Palo Alto, California: Spinco Division of Beckman Instruments Inc.
- AOAC. (1995) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. The Association: Arlington, VA.
- AOAC. (1982) **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Official Method 982.30. Protein efficiency ratio. Calculation method. First action.
- Badui D. S. (2006) **Química de los alimentos**, Ed. Acribia, 4^a ed, México, 566-567, 577p.
- Bernal-Lugo I., Prado G., Parra C., Moreno E., Ramírez J., Velazco O. (2003). **Phytic acid hydrolysis and bean susceptibility to storage induced hardening**. Journal of Food Biochemistry, V 14:253-261.
- Bilbao R. T., Fuertes B. S. (2000). **Evaluación de la calidad de dos leguminosas durante su almacenamiento comercial**. Instituto de Farmacia y alimentos, Cuba, 42 p.
- Biomanantial. (2003) www.biomanantial.com/los-taninos-su-papel-en-la-salud-a-508.html

- Blancas M. V. H. (2001). **Estudio de las modificaciones en la pectina que ocurren durante el remojo de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris*)**. Tesis Facultad de Química, UNAM, 52 p.
- Blanco A., Bressani R. (1991). **Biodisponibilidad de aminoácidos en el frijol**. INCAP, Guatemala, V 41: 38-52.
- Brenes A, Brenes J. (1993). **Tratamiento tecnológico de los granos de leguminosas: Influencia sobre su valor nutritivo**. FEDNA, Barcelona, 32 pp.
- Bonilla A. R., Calzada C., Cooke R. (1991). **Efecto de la cocción tradicional sobre los factores antinutricionales de los frijoles negros (*Phaseolus vulgaris* L.) de Costa Rica**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, V 41.
- Cadena C. J. L. (2007). **Relación entre el deterioro del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) provocado por un almacenamiento inadecuado y la generación de estres oxidativo**. Tesis Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, UNAM, 75 pp.
- Carpita N. C. (2000). **The cell wall**. In: Biochemistry Molecular Biology of plants. Ed. Buchanas B. Gruissem. W. Jones., American Society of Plant Physiology, USA, 52-107p.
- Colprocah. (2009) **Manejo de la cosecha y postcosecha de semilla de frijol**. www.colprocah.com/docsPDF/Secciones/ManejoSemillaFrijol.pdf
- Del Pino V. H., Lajolo F. M. (2003). **Efecto inhibitorio de los taninos del frijol carioca (*Phaseolus vulgaris* L.) sobre la digestibilidad de la**

faseolina por dos sistemas multienzimáticos. Ciencia y Tecnología Alimentaria, V. 23: 49-53.

- Desphande S. S. (2002). **Handbook of Toxicology.** Ed. Board, U. S. A.
- FAO (2009)
www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro03/cap8_1.htm
- Fenalce. (2007) **Federación Nacional de Cultivadores de cereales y leguminosas.** www.fenalce.net/pagina.php?p_a=51
- Flores del V. N. I. (2003). **Evaluación nutricional y toxicológica del ejote de colorín (*Erythrina Americana*) después de ser sometido a un proceso de cocción.** Tesis Facultad de Química, UNAM, 111pp.
- Fornos, M. (2009) **Frijol, Manejo Postcosecha de la Semilla.** Programa de Recursos Genéticos Nicaragüenses, Nicaragua, p. 42-53.
- Frontela C., Ros G., Martínez C. (2008). **Empleo de fitasas como ingrediente funcional en alimentos.** Archivos Latinoamericanos de nutrición, V. 58(3): 215-220.
- FUNICA: Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua. (s/f). **Análisis de la cadena subsectorial del frijol.** V. 1: 1-58.
- Gómez-Brenes R. A., Núñez E., Bressani R., Brabam J. (1983). **Comportamiento biológico de fracciones proteínicas aisladas del frijol común.** INCAP, Guatemala, V. 33(3): 519-538.

- Gómez-Brenes R. A., Núñez E., Bressani R., Brabam J. (1983). **Efecto de varios solventes sobre la extracción de las fracciones proteicas del frijol.** INCAP, Guatemala, V. 33(3): 504-518.
- González P. P. (2001). **Efecto del procesamiento con calor sobre la cuantificación de Lectinas de frijol y su toxicidad remanente.** Tesis Facultad de Química, UNAM, 122 pp.
- Haug W. Lantzsch. (1983). **Sensitive Method for rapid determination of phytate in cereals and cereal products.** J. Sci Food Agric V. 34: 1423-1426.
- Health notes; (2004)
www.osteobiflex.com/vf/healthnotes/HN_Live/Spanish/Es-Supp/IP-6.htm#Dosage
- Hentges D. L., Weaver C. M., Nielsen S. S. (1991). **Changes of selected Physical and chemical components in the development of the hard-to-cook bean defect,** Journal of Food Science, V. 56: 436-441.
- Hernández R. I., García H. J., Pastor L. F., Tarángo A. L., Becerra R. J. J., Torres T. M. E., Martínez C. O. (2003). **Programa Estratégico de Necesidades de Investigación y Transferencia de Tecnología en el Estado de San Luis Potosí: Caracterización de la Cadena Agroalimentaria del frijol de riego e identificación de sus demandas tecnológicas,** México. www.snitt.org.mx/pdfs/demanda/frijol-riego.pdf
- Hincks M. J., McCannel A., Stanley D. W. (1987) **Hard-to-cook defect in black beans. Soaking and cooking processes.** Journal Agric Food Chemistry, V. 35 (4), p 576-583.

- INEGI. (2008) **El sector alimentario de México**
www.inegi.gob.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/SAM/2008/sam2008.pdf
- ISO 9648. (1988) **Determinación del contenido de taninos en sorgo.** Internacional Organization of Standarization.
- Jones P. M. B., Boulter D. (1983). **The cause of Reduced Cooking Rate in Phaseolus vulgaris Following Adverse Storage Conditions.** J. Food Sci., V. 48: 623-649.
- Kakade M. R., J. McGhees, Puski G. (1974). **Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A colaborative analysis of an improved procedure.** Cereal Chemistry, V. 51: 376-382.
- Lindner E. (1995) **Toxicología de los alimentos.** Ed. Acribia, 4^a ed, España.
- L. G. E., García-Soto A., Bressani R. (1986). **Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*).** Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala, 42 p.
- Liu Keshun, Dixon Philips R.; McWatters K. (1993). **Mechanism of pectin changes during soaking and heating as related to Hard-to-Cook defect in cowpeas.** J. Agric Food Chem., V. 41 (9): 1476-1480.
- Méndez V. R. F. (2003). **Influencia del remojo en las pectinas de la lamina media del cotiledón de los frijoles deteriorados (*Phaseolus vulgaris L.*).** Tesis Facultad de Química, UNAM, 65p.

- Mendoza B. J. (1991) **Validación de una metodología para la determinación de ácido fítico en alimentos.** Tesis Facultad de Química, UNAM, 77 p.
- Moreno C. P. (1996) **Vida y obra de granos y semillas,** México. http://lectura.ilce.edu.mx:3000/biblioteca/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/146/htm/sec_5.htm
- Obesidad (2002). www.obesidad.net/spanish2002/default.htm
- Osorio-Díaz P., Pérez M. G., Agama-Acevedo E., Islas-Hernández J. J., Sánchez-Muñoz J., Bello-Pérez L. A. (2003). **Biodisponibilidad del almidón en dos variedades comerciales de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y en frijoles industrializados,** Agrociencia, V. 37: 565-573.
- Rojas A. M. (2006) **Tratado de Medicina tradicional mexicana.** www.tlahui.com/medic/medic21/frijol.htm
- SAGARPA (2003): <http://www.sagarpa.gob.mx/dlg/coahuila/estadisticas/Frijolriego.pdf>
- SAGARPA (2009): http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/info/sp/frijol/pr_gto.pdf
- Sefa-Dedeh S., Satnley D. W., Voisey P. W. (1978). **Effects of soaking time and cooking conditions on texture and microstructure of cowpeas.** Journal of Food Science, V 43: 1832-1838.

- Shiga T. M., Lajolo F. M. Tulia M. C. C. (2004). **Changes in the cell wall polysaccharides during storage and hardening of beans**, Food Chemistry, V 84: 1-12.
- Sievwright C. A., Shipe W. F. (1986). **Effect of storage conditions and chemical treatments on firmness, in Vitro protein digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris*)**, Journal of Food Science, V 51:982-987.
- Shomer Ilan, Paster Nachman, Lindner R., Vasiliver, R. (1990) **The role of cell wall structure in the hard-to-cook phenomenon in beans (*Phaseolus vulgaris L.*)**, Food Structure, V. 9: 139-149.
- SIAP-SAGARPA (2005):
www.siap.sagarpa.gob.mx/ventana.php?idLiga=1500&tipo=0
- Tovar J., Fernández-Piedra M., Blanco-Metzler A. (2005). **Digestibilidad in Vitro del almidón en preparaciones cocidas y molidas de frijol (*Phaseolus vulgaris L.*)**, INCI, V. 30: 41-52.
- Urbano G., Aranda P., Gómez-Villalva E., Frejnagel S., Porres J. M., Frias J., Vidal-Valverde C., López M. (2003). **Nutritional evaluation of peã (*Pisum sativum L.*) protein diets after mild hydrothermal treatment and with and without added phytase**, Journal Agric Food Chem., V. 51: 2415-2420.
- Valle V. P., Lucas F. B. (2000). **Toxicología de alimentos**. Instituto Nacional de Salud Pública, México, p 64-72, 93.

- Vargas-Torres A., Osorio-Díaz P., Agama-Acevedo E., Morales-Franco L., Bello-Pérez L.A. (2006). **Digestibilidad del almidón en diferentes variedades del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)**, INCI, V. 31 (12): 881-884.
- Vargas-Torres A., Osorio-Díaz P., Islas-Hernández José J., Tovar J., Paredes-López O., Bello-Pérez L. A. (2004). **Starch digestibility of five cooked black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties**. Journal of Food Composition and Analysis, V. 31(12): 605-612.
- Varriano-Marston E., Jackson M. G. (1981). **Hard-to-cook phenomenon in beans: Structural changes during storage and imbibition**, Journal of Food Science, V. 46: 1379-1385.

8. ANEXOS

Encuesta

Edad: 25-35 años _____ 36-45 años _____ Más de 46 años _____

1. ¿Usted o su familia directa consumen frijol? Si ___ No ___
2. ¿Con que frecuencia lo consumen? _____
3. ¿Cuál es la variedad o variedades que más consumen?

4. ¿En qué utensilio de cocina lo cuecen?
Olla Express _____ Olla de Barro _____ Otro _____
5. ¿Durante cuanto tiempo los cuecen? _____
6. ¿Para cocinarlo remojan previamente los frijoles? Si ___ No___
7. ¿Cuánto tiempo los remojan? _____
8. ¿Usan la misma agua de remojo para cocer los frijoles o la cambian?

Resultados

Edad: 25-35 años

Personas encuestadas: 26

Frecuencia del consumo de frijol:

Frecuencia de consumo	No. de personas	%
Diario	10	38.46
Tres veces por semana	9	34.62
Dos veces por semana	2	7.69
Una vez por semana	4	15.38
Una vez al mes	1	3.85

Utensilio de cocina utilizado para cocción:

Utensilio de cocina	No. de personas	%
Olla Express	20	76.92
Olla de barro	6	23.08

Tiempo de cocción en olla Express:

Tiempo (minutos)	No. de personas	%
30 – 45	7	35
46 – 60	10	50
61 – 90	1	5
91 – 120	2	10

Tiempo de cocción en olla de barro:

Tiempo (Horas)	No. de personas	%
1	2	33.33
1.5	1	16.67
2	2	33.33
3	1	16.67

Tiempo de remojo previo a la cocción:

Tiempo	No. de personas	%
5 – 10 min	1	12.5
15 – 20 min	1	12.5
30 min	2	25
1 hora	1	12.5
2 horas	1	12.5
12 horas	2	25

Remojo previo a la cocción del frijol:

8 personas remojan el frijol (30.77%) de las cuales:

1 persona usa la misma agua de remojo (12.5%) y las 7 personas restantes la desechan (87.5%).

Edad: 35 - 46 años

Personas encuestadas: 28

Frecuencia del consumo de frijol:

Frecuencia de consumo	No. de personas	%
Diario	13	46.43
Tres veces por semana	5	17.86
Dos veces por semana	3	10.71
Una vez por semana	7	25

Utensilio de cocina utilizado para cocción:

Utensilio de cocina	No. de personas	%
Olla Express	21	75
Olla de barro	5	17.86
Otras*	2	7.14

* Olla eléctrica y olla de peltre

Tiempo de cocción en olla Express:

Tiempo (minutos)	No. de personas	%
20 - 45	10	47.62
46 - 60	7	33.33
61 - 90	3	14.29
91 - 120	1	4.76

Tiempo de cocción en olla de barro:

Tiempo (Horas)	No. de personas	%
1	1	20
2	2	40
2.5	1	20
4	1	20

Tiempo de remojo previo a la cocción:

Tiempo	No. de personas	%
20 – 60 min	4	33.36
12 horas	7	63.64

Remojo previo a la cocción del frijol:

12 personas remojan el frijol (42.86%) de las que consumen frijol, de las cuales:

7 personas usan la misma agua de remojo (58.33%) y las 5 personas restantes la desechan (41.67%).

Edad: Más de 46 años

Personas encuestadas: 39 personas

Frecuencia del consumo de frijol:

Frecuencia de consumo	No. de personas	%
Diario	22	56.41
Tres veces por semana	6	15.38
Dos veces por semana	4	10.26
Una vez por semana	2	5.13
Dos veces al mes	4	10.26
Una vez al mes	1	2.56

Utensilio de cocina utilizado para cocción:

Utensilio de cocina	No. de personas	%
Olla Expres	26	66.67
Olla de barro	13	33.33

Tiempo de cocción en olla Express:

Tiempo (minutos)	No. de personas	%
30 – 45	8	30.77
46 – 60	11	42.31
61 – 90	2	7.69
91 – 120	5	19.23

Tiempo de cocción en olla de barro:

Tiempo (Horas)	No. de personas	%
1.5	2	15.38
2	2	15.38
2.5	4	30.77
3	4	30.77
4	1	7.70

Tiempo de remojo previo a la cocción:

Tiempo	No. de personas	%
15 min	1	6.25
30 min	2	12.5
45 min	1	6.25
4 horas	2	12.5
12 horas	10	62.5

Remojo previo a la cocción del frijol:

16 personas remojan el frijol (41.03%) de las que consumen frijol, de las cuales:

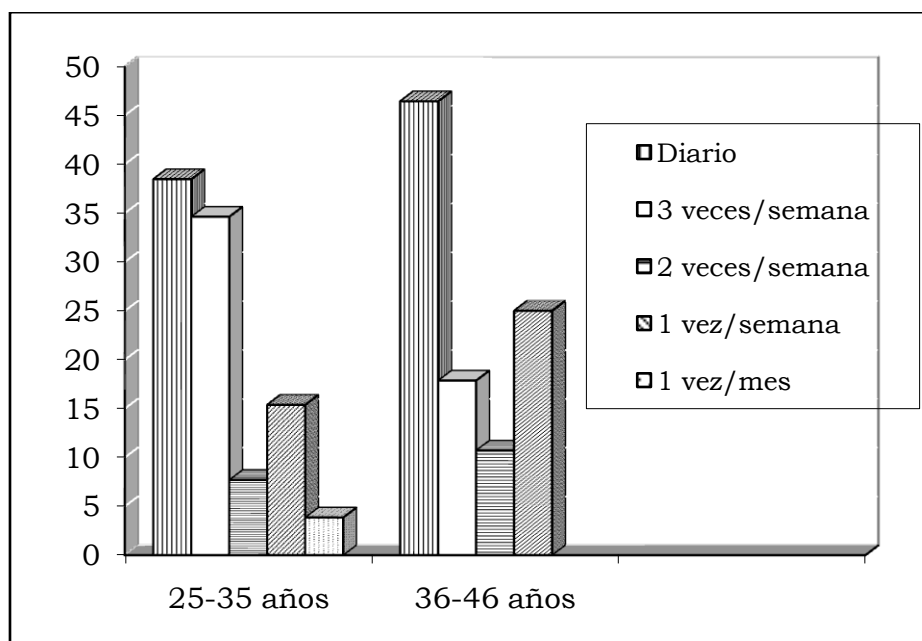
11 personas usan la misma agua de remojo (68.75%) y las 5 personas restantes la desechan (31.25%) de las que remojan previamente los frijoles.

Encuesta General

Personas encuestadas: 93

Frecuencia del consumo de frijol:

Frecuencia de consumo	No. de personas	%
Diario	45	48.39
Tres veces por semana	20	21.50
Dos veces por semana	9	9.68
Una vez por semana	13	13.98
Dos veces al mes	4	4.30
Una vez al mes	2	2.15



Utensilio de cocina utilizado para cocción:

Utensilio de cocina	No. de personas	%
Olla expres	67	72.04
Olla de barro	24	25.81
Otras*	2	2.15

* Olla eléctrica y olla de peltre

Tiempo de cocción en olla Express:

Tiempo (minutos)	No. de personas	% población en general
20 – 45	25	26.88
46 – 60	28	30.11
61 – 90	6	6.45
91 – 120	8	8.60

Tiempo de cocción en olla de barro:

Tiempo (Horas)	No. de personas	% población en general
1	3	3.23
1.5	3	3.23
2	6	6.45
2.5	5	5.37
3	5	5.37
4	2	2.15

Tiempo de remojo previo a la cocción:

Tiempo	No. de personas	%población en general
5 – 10 min	2	2.15
15 – 20 min	3	3.23
30 min	5	5.37
45 min	1	1.08
1 hora	2	2.15
2 horas	1	1.08
4 horas	2	2.15
12 horas	19	20.43

Remojo previo a la cocción del frijol:

36 personas remojan el frijol (38.71%), de las cuales:

19 personas usan la misma agua de remojo (20.43%) y las 17 personas restantes la desechan (18.28%).