

## RESUMEN

Dentro del grupo de leguminosas comestibles, el frijol común es una de las más importantes, por ser complemento nutricional indispensable en la dieta alimenticia, son importante fuente de: proteína, fibra dietética y algunos minerales como el fósforo y hierro. Existen mecanismos que producen la dureza del frijol, bajo ciertas condiciones de almacenamiento; entre los factores involucrados: la estructura propia de la semilla, el tamaño, forma, área superficial, grosor de la semilla y grosor de testa, estos pueden influir en el grado de absorción de agua del frijol durante el cocinado.

En este estudio se utilizaron semillas de 2 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*), la variedad Selección 4 (S4) y Marco Vinicio (MV) obtenidas de la Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Las semillas se evaluaron recién cosechadas y después de 6 y 12 meses, se estudió su morfología (largo, grosor y ancho de la semilla; peso de la testa y del cotiledón; volumen y densidad de la semilla, densidad del caldo de cocción), anatomía (grosor de la testa, de la capa de esclereidas de la testa, de la capa de macroesclereidas de la testa, de la capa de microesclereidas de la testa, de la capa de parénquima de la testa; longitud y ancho de las células de la parte externa de los cotiledones, de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, de las células de la parte media de los cotiledones, de los gránulos de almidón de la parte media de los cotiledones, de las células de la parte interna de los cotiledones, de los gránulos de almidón de la parte interna de los cotiledones, de las macroesclereidas, de las microesclereidas, de los gránulos de almidón con 1, 2, 3, 4 y 18 horas de hidratación), coeficiente de hidratación y tiempo de cocción. Para la evaluación, los datos obtenidos se analizaron estadísticamente utilizando la prueba de "t" de student y ANOVA (ONEWAY), en el paquete estadístico SPSS.

Se obtuvieron los siguientes resultados: el grosor de la semilla disminuyó 5.84% a los 12 meses en la variedad S4 y 5.47% en MV; el ancho de la semilla se incrementó 7.84% en S4. El peso de las semillas en la variedad MV se observó un incremento de 5.8% a los 12 meses, el peso de la testa se incrementó 73.8% en ese mismo periodo y para S4, el peso de la testa disminuyó 12.0% a los 12 meses. Para el largo de la semilla se observó un incremento de 0.97 % en MV y una disminución de 0.99% en S4. La densidad de la semilla se incremento 6.2 y 9.7 % en S4 y MV respectivamente. En cuanto a los parámetros anatómicos (longitud y ancho de las células de la parte externa, longitud de las células de la parte media, longitud y ancho de las células de la parte interna de los cotiledones), se apreció un aumento en estas variables en la variedad S4 y una disminución en la variedad MV. En cuanto al grosor de la testa se encontró que fue mayor en la variedad MV lo cual estuvo fuertemente influenciado por la presencia de células de parénquima entre el cotiledón y las esclereidas en MV.

El coeficiente de hidratación a las 18 horas se incrementó en ambas variedades a los 12 meses (28 y 12% en S4 y MV, respectivamente). En el análisis bromatológico, la humedad, ceniza y grasa se encontró que tales componentes disminuyeron su valor porcentual con el tiempo, esta disminución fue estadísticamente evidente ( $P < 0.01$ ), principalmente a los 12 meses, después de la cosecha, así tenemos que la humedad y la ceniza disminuyeron 1.7 y 3.0%, respectivamente en S4 y un 1.1 y 1.0 en MV; la grasa y proteína también disminuyeron pero sólo en S4 (0.4 y 0.8%, respectivamente). El extracto libre de nitrógeno (carbohidratos) mostró incremento en ambas variedades (3.6% en S4 y 2.2% en MV). El tiempo de cocción mostró un incremento en ambas variedades después de los 12 meses (28.6% para S4; 50.0% para MV). El coeficiente de hidratación mostró un incremento a las 18 horas, 26.6 y 11.7% en S4 y MV, respectivamente. Los minerales que disminuyeron en la testa fueron Mg, Na, Ca (69, 55 y 63% en S4, 6, 80 y 47% en MV) e incremento en K (103 y 69% en S4 y MV, respectivamente), en el cotiledón disminuyeron Na, K y Ca (90, 40 y 37% S4 y 96, 11 y 75% para MV).

Con los resultados obtenidos se concluye que la semilla de frijol presenta cambios en su estructura (morfología y anatomía), así como también en bromatología, hidratación, tiempo de cocción, contenido de minerales, respecto a la variedad y entre las variedades a través del tiempo.

## INTRODUCCIÓN

La utilidad principal de las leguminosas reside en las semillas más que en cualquier otra parte de la planta. El interés de la semilla de esta especie radica en su empleo, tanto en la alimentación humana como animal, ya que es considerada como un alimento energético y nutritivo (Cubero y Moreno, 1983). Constituyen un importante suplemento alimenticio especialmente en los países en desarrollo, principalmente se usa en forma de grano, legumbre y aceite. Sin embargo existen otros usos de forma secundaria, como es el forraje, abono verde, ensilado y henificado paja (Cubero y Moreno, 1983).

El frijol común es el más consumido y el más cultivado con aproximadamente 500 variedades (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993). El frijol común es miembro de la familia Fabaceae, subfamilia Papilionaceae, género *Phaseolus*, especie *vulgaris* (Cubero y Moreno, 1983). De más de 1300 especies de legumbres solamente cerca de 20 son comúnmente consumidos por humanos (Reyes-Moreno y Paredes-López 1993).

Los frijoles comunes son una buena fuente de proteína y son una excelente fuente de carbohidratos complejos (Sathe et al. 1985). También la fibra dietética del frijol ha sido foco de atención por ser efectiva en bajar el colesterol en la sangre y aumentar la tolerancia a la glucosa (Jenkins et al. 1986). El frijol es bajo en sodio, pero es buena fuente de ciertos minerales (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K y Mg) y vitaminas (tiamina, riboflavina y niacina). Es considerado como fuente de ácidos grasos poliinsaturados libres (linoleico y linolénico). Sin embargo, es deficiente en los aminoácidos azufrados metionina y cistina (Agustín y Klein, 1989).

Los frijoles tienen atributos indeseables como largo tiempo de cocción, inhibidores de enzimas, fitatos, factores de flatulencias, compuestos fenólicos, hemaglutininas (lectinas) y alérgenos, los cuales pueden ser removidos o eliminados para hacer más efectiva su utilización (Gupta, 1987).

Las cualidades del grano están determinadas por factores tales como aceptabilidad por los consumidores (tamaño del grano, color, apariencia, estabilidad a las condiciones de almacenaje, propiedades del cocinado, cualidades de remojo y valor nutricional). Estos factores son afectados por la constitución genética del grano, así como, por las condiciones ambientales de producción (Hosfield y Uerbersax, 1980 y Hosfield et al. 1984).

La apariencia del frijol crudo y textura de los frijoles cocinados son críticos para la aceptación del consumidor (Watts et al. 1987). El defecto de alto tiempo de cocción (HTC) es la más importante característica de aceptabilidad (Jones y Boulter, 1983). Los mecanismos que envuelven a este defecto no han sido hasta la fecha elucidados satisfactoriamente (Hincks y Stanley, 1986).

Para el valor nutritivo hay tres aspectos fundamentales a considerar: composición de aminoácidos, factores antinutricionales y digestibilidad (estrechamente relacionada con el contenido en sustancias antinutritivas) y facilidad para la cocción y procesado (De Haro, 1983, citado en Cubero y Moreno, 1983).

Para su consumo el frijol se remoja en agua, evento que se puede o no ser descartado. Este se efectúa antes del cocimiento, dependiendo de las perspectivas regionales. Algunas prácticas pueden influir en la calidad nutricional de los frijoles (Bressani et al. 1988). Ciertas vitaminas solubles en agua e importantes minerales nutricionales, pueden también perderse al remojar en agua. También pueden ser eliminados, algunos de los compuestos indeseables tales como oligosacáridos productores de flatulencias, inhibidores de enzimas proteolíticas y polifenoles (Deshpande et al. 1985).

La cocción puede ser realizada a presión atmosférica, temperatura y alta presión (autoclave). El principal propósito de la cocción es el desarrollo del aroma y de proporcionar frijoles tiernos. El agua de la cocción puede o no ser descortada, dependiendo de la cultura, preferencias personales. Generalmente el lavado precede al cocinado. La cocción de los frijoles puede producir algunos cambios en las cualidades físicas, bioquímicas y nutricionales. Además de tiempo de cocción prolongados que reducen las cualidades nutritivas del frijol (Bressani et al. 1963).

Si la cocción se hace por tiempo óptimo el grano mejora su sabor y digestibilidad además la testa y el cotiledón pierden su rigidez. El cambio de la textura del grano durante la cocción se debe a cambios estructurales y descomposición de la pared celular (Varriano-Marston y Jackson, 1981; Jones y Boulter, 1983), mientras que el aumento en el valor nutritivo ocurre por cambios en la descomposición del citoplasma de las células del cotiledón (Bernal-Lugo, 1987).

La digestibilidad de los **gránulos de almidón** “*in vivo*” e “*in vitro*” depende de la fuente de almidón, el procesado del alimento y condiciones de almacenaje. La mala digestibilidad del almidón es usualmente mejorada por el cocimiento, debido probablemente a que cambia la cristalinidad en el gránulo, gelatinización del gránulo o la inactivación del inhibidor alfa amilasa. La digestibilidad del almidón puede ser obstaculizada por los componentes de fibra en la dieta tales como celulosa, hemicelulosa y lignina (Dreher et al. 1988).

Bajo ciertas condiciones de almacenamiento el frijol se ve afectado por cambios indeseables que afectan negativamente su calidad (Bressani y Flores, 1975). Estos granos requieren un mayor tiempo de cocción para lograr la suavidad deseada por el consumidor y se dice que el frijol se ha endurecido. Esta pérdida de la calidad culinaria va acompañado de una disminución en el valor nutritivo del grano (Tobin y Carpenter, 1978).

Es bien conocido que los frijoles secos se deterioraron durante su almacenamiento. Los cambios incluyen una reducción en la capacidad de absorción de agua, pérdida de la capacidad de cocimiento de los cotiledones y alteraciones en textura, color y sabor (Molina et al. 1975 en Sievwright y Shipe, 1986).

Un fenómeno en el cual los cotiledones no se ablandan fácilmente durante la cocción o por el problema de la testa dura, lo cual ocurre cuando los frijoles no se embeben o exhiben bajas tasas de imbibición (Bourne, 1967; Jackson y Varriano-Marston, 1981; Reyes-Moreno, 1992 en Castellanos et al. 1995).

La pérdida en la calidad del frijol durante el almacenamiento disminuye la cantidad de agua disponible para la alimentación y además representa pérdidas económicas para el productor, ya que el valor comercial del grano disminuye. Para la industria el endurecimiento del frijol dificulta la estandarización, tanto del proceso como del producto terminado, lo que demerita considerablemente la calidad del producto endurecido, porque requiere un mayor gasto de energía para la cocción (Bernal-Lugo, 1987).

México con una producción anual de 1.1 millones de toneladas métricas de frijol, es el segundo productor de frijoles (*Phaseolus*) en el mundo. Los frijoles son un componente vital en la dieta de los mexicanos con un consumo de 15 Kg per capita.

En el estado de Nuevo León, la producción de frijol no es autosuficiente para el consumo poblacional, por lo cual, es necesario transportarlo de otros estados de la República, haciendo la adquisición mas cara para el consumidor.

En la Facultad de Agronomía existe un programa de mejoramiento del frijol, en el cual se ha trabajado en diversas variedades con la finalidad de obtener mejores líneas, que den más rendimiento y tengan mejores características agronómicas, aceptación por el consumidor y resistencia a plagas. Entre estos trabajos destacan, una investigación sobre el comportamiento de 14 variedades y líneas experimentales de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) llevado a cabo en el ciclo de Primavera en el campo experimental de la Facultad. Se encontró que entre los 14 tratamientos probados, uno de los que presentó buen rendimiento de grano fue la variedad Selección 4, considerándola factible de recomendar.

Por lo anterior, se consideró importante profundizar sobre el conocimiento de esta variedad, que actualmente ya se comercializa en nuestra región, y compararla con una variedad experimental, que no ha podido ser introducida al mercado y que además es altamente susceptible al ataque de los insectos de almacén.

La variedad Selección 4 está catalogada dentro del tipo agronómico 2; tiene un hábito de crecimiento indeterminado erecto; los días a floración son de 45 a 55 después de la siembra y la flor es de color blanco; tarda 100 a 116 días en alcanzar la madurez comercial, y la semilla es del tipo "pinto", de forma arriñonada y pequeña. Por su parte la otra variedad objeto de este estudio, Marco Vinicio, presenta un hábito de crecimiento indeterminado erecto; días a floración, 50 a 55 después de la siembra y 105 a 117 días a madurez comercial; flores moradas y la semilla es de tipo "bayo", de forma cilíndrica y pequeña (Contreras, 1981).

La presente investigación trata de aportar información obtenida en 2 variedades cultivadas en el estado de Nuevo León, que se sumen a los ya existentes y que de alguna manera contribuyan a proporcionar más información sobre este aspecto.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

Determinar y evaluar los cambios fisicoquímicos, morfológicos, anatómicos que se presentan postcosecha en 2 variedades de frijol.

### **Objetivos Específicos**

- a) Evaluar las diferencias fisicoquímicas, morfológicas, anatómicas y contenido de minerales a los 0, 6 y 12 meses para la variedad Selección 4 y variedad Marco inicio.
- b) Determinar las diferencias fisicoquímicas, morfológicas, anatómicas y contenido de minerales entre las 2 variedades de semillas de frijol a los 0, 6 y 12 meses.

## **HIPOTESIS**

Las características estructurales de la semilla son modificadas con el tiempo, afectando su imbibición y el tiempo de cocción de las mismas.

Las características químicas de la semilla son modificadas con el tiempo, afectando su imbibición y el tiempo de cocción de las mismas.

## ANTECEDENTES

### GENERALIDADES

Frijol: *Phaseolus vulgaris* L.

Familia: Leguminosae

Es la leguminosa más importante de México y ocupa el segundo lugar después del maíz, en cuanto a su consumo per cápita (INEGI, 1997).

El frijol se cultiva principalmente para la producción de semilla no obstante de variedades verdes inmaduras o ejotes que se consumen como verdura, las hojas y tallos residuales de la cosecha (paja) se emplean como forraje. Las raíces y partes residuales de la cosecha se dejan generalmente en el terreno, enriqueciéndolo con el nitrógeno contenido en los nódulos.

En México suele intercalarse o alternarse los cultivos de frijol y maíz, ambos en el mismo ciclo agrícola o independientemente en diferentes ciclos (INEGI, 1997).

### Descripción Botánica

Debido al gran número de variedades se clasifican normalmente según su porte en dos grupos: arbustivos, de crecimiento bajo y determinado; y en trepadoras, de tallos largos y crecimiento indefinido. La abundancia de ramificaciones y follaje, así como la duración de su ciclo vegetativo, también son importantes para su clasificación. En la planta madura el tallo es aristado o cilíndrico, hueco y con la epidermis pubescente o lisa. Las hojas superiores (exceptuando las dos primeras en la germinación, que son simples y opuestas) son alternas y compuestas, se forman de 3 folíolos, con el haz frecuentemente piloso, el centro es obovado y simétrico, las laterales asimétricas, con la base del pecíolo engrosada, debajo del cual hay un par de estípulas, el tamaño y forma de las hojas varían considerablemente según la variedad o los factores ambientales. Las flores son amariposadas su color varía de blancas al morado, bisexuales, una característica distintiva del género es que el ápice de la quilla está arrollado en espiral; las flores están dispuestas en racimos en las axilas de las hojas. El fruto es una legumbre dehiscente puede ser

aplanada, recta o curva, con ápice encorvado o recto, el color es variable, verde uniforme a morado o casi negro, contiene varias semillas, de formas que van desde la esférica hasta la cilíndrica, siendo la más común la arrifionada, la coloración también varía mucho de negro a blanco, pasando por todas las gamas de colores y puede ser uniforme, jaspeada, punteada o manchada (INEGI, 1997).

Regionalismo: Alubia (Aguascalientes, Durango, Jalisco, Puebla, Quintana Roo), ayocote (Distrito federal, Hidalgo, México, Morelia, Puebla, Querétaro, Tlaxcala), bótíl (Chiapas), comba (Guerrero, México, Michoacán), chichimequel (Veracruz), habichuela (Durango), ibe (Campeche, Quintana Roo, Yucatán), judía (Guerrero, México, Michoacán), mayocoba (Sinaloa), patlaxte (Puebla), patachete (Chiapas), patol (Durango, Zacatecas), patoles (Aguascalientes), tecomare (Chihuahua), tepan (Sonora), vigna (Baja California Sur), xpelo (Campeche, Quintana Roo, Yucatán) (INEGI, 1997).

Otros nombres: ayocote (México), caráota (Venezuela), chaucha (uruguay), chinameca (Salvador), cholo (Ecuador), degul (Chile), ejote (Salvador), frégol, fréjol, frijol, f. común (Salvador), f. de castilla (México, Salvador), f. de rienda (Salvador), f. dulce (Salvador), f. mexicano (Salvador), f. mono (Salvador), frísol (Colombia), habichuela (Puerto Rico, Santo Domingo), huizúcar (Salvador), judehuela (Bolivia), panamitos (Perú), patacheta (México), poncha (Venezuela), poroto, f. común (Argentina), p. corriente (Guatemala), p. de rama (Argentina), p. enano, p. judehuela (Argentina), p. trepador (Argentina), purutu (Perú), taleta (Salvador), tapiramo (Venezuela), tapirucuso (Venezuela), tineco (Salvador), fasol, fasoler, fesol, fesoler, fesolera, garrofo, mocheta, mongeta, mongctera, mongetes, mungeta (Valencia, catalán), babarrum, baberrum, baberruna, banabar (euskera), feixo, faba, haba (Gallego); bohnem buschbohne, fisible, gartenbohne, gemusebohne, schminbohne, stangebohne (Alemán), faverolle, faviole, feve a visage, f. de mer, f. peinte, flageolet, haricot, h. a rames, h. común, h. 'Orleans, h. de Soissons, h. nain, h. ordinaire, mongette, phaseole, pois beurre, p. blanc., p. de mer, p. de souche, p. indien, p. de la maniere, p. noir, p. nourrice, p. souche, p. tendre (Francés); fagioletti, fagiolo, f. mangiatutto, f. rampicante, faguiolo (Italiano); feijao, f. comun, f. de trepa, f. de vassoura, f. sapota, f. rasteiro, f. vagem, feijoeiro, feijoes anoes, f. de trepar, f. de vara (Portugués).

### **Importancia de *Phaseolus* sp**

Las legumbres son una importante fuente como suplemento alimenticio, especialmente en ciudades desarrolladas como alimento energético y nutritivo (Augustin y Klein, 1989). Ocupan un lugar especial en la dieta del humano porque ellas contienen 2 ó 3 veces más proteína que los cereales (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

De más de 1300 especies de legumbres, solamente cerca de 20 son comúnmente consumidas por humanos. El frijol común (*Phaseolus vulgaris*) es una legumbre consumida en grandes cantidades a través del mundo. El frijol común es miembro de la familia Leguminosac, tribu Phaseolcae subfamilia Papilionaceae. Esta semilla puede ser redonda, elíptica, algunas veces aplanada o redondo elongada en forma y tiene varios colores en la testa. El frijol común es el mejor consumido y el más cultivado con aproximadamente 500 variedades. Fue alimento de nuestros ancestros encontrándose cultivado en el valle de Tehuacan en México en el 4975 A.C. (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

La contribución del frijol común a la dieta a través del mundo es apreciable. Los frijoles son menos caros que los productos de origen animal y tienen una considerable larga vida de anaquel que algunos productos de origen animal, frutas y vegetales siempre y cuando sean almacenados en condiciones apropiadas (Morrow, 1991). Los frijoles comunes son una buena fuente de proteína y son un excelente fuente de carbohidratos complejos (Sathe et al. 1985). El frijol común es bajo en sodio. Son una buena fuente de vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B<sub>6</sub> y ácido fólico) y ciertos minerales (Ca, Fe, Cu, Zn, P, K y Mg), son excelente fuente de ácido grasos poliinsaturados libres (linoleico, linolenico) (Augustin y Klein, 1989).

Las proteínas de las legumbres son, sin embargo de bajo valor biológico, es decir, que les faltan algunos de los aminoácidos esenciales para la alimentación humana. Estas deficiencias se compensan fácilmente mediante composición culinaria con otros alimentos como carne, pescado o huevos y con algunos cereales como el arroz que poseen los aminoácidos que le faltan a las legumbres. Las legumbres apenas contienen grasas; estas también son ricas en los dos principales tipos de hidrato de carbono, que necesitan para tener una nutrición humana saludable: asimilable (almidón) y no asimilables (fibra soluble

e insoluble). Las vitaminas que destacan en las legumbres son la provitamina A y las vitaminas del grupo B (niacina y tiamina). El contenido en minerales es elevado aunque existen variaciones en relación a la especie; las legumbres son ricas en calcio, fósforo, potasio, magnesio, hierro y yodo; además son alimentos bastante completos ya que aportan proteínas, almidón, fibra soluble e insoluble, algunos minerales, vitaminas y pocas grasas. Esto junto a su capacidad para combinar con otros alimentos, y a su facilidad de conservación y almacenamiento, las hace muy adecuadas para la nutrición humana. Las legumbres son muy ricas en fibra soluble, esta fibra que también está formada por hidrato de carbono que no se puede digerir se diferencia de la insoluble en que se puede mezclar homogéneamente con todo el bolo alimenticio. Su efecto beneficioso es complementario del que proporciona la fibra insoluble. La fibra soluble se rodea de mucho agua y tapiza la superficie de la mucosa intestinal, sirviendo de barrera que retrasa la absorción de nutrientes como la glucosa o el colesterol (Carpillo-Alvárez, 1997).

El almidón es la principal fuente de reserva de carbohidratos de las plantas superiores y se encuentra en los granos de cereales, las semillas de las leguminosas y en los frutos constituye una reserva a largo plazo para la germinación y posterior crecimiento de las semillas. El almidón es importante, en primer lugar, como fuente de energía de la dieta y en segundo lugar porque sus propiedades físicas influyen en la textura y aceptabilidad de los alimentos. Todos los almidones naturales son gránulos insolubles semicristalinos que varían en tamaño, forma y resistencia mecánica durante el crecimiento de la planta, puede cambiar tanto el tamaño medio y forma de los gránulos, como su composición química. El almidón y la celulosa (glicanos) son homopolímeros formados por unidades de glucosa aunque se distinguen por sus propiedades físicas, ya que el primero es granular y la segunda fibrosa. El almidón forma geles, mientras que la celulosa forma micelas insolubles y productos cristalinos. La fibra esta formada principalmente por polisacáridos y lignina provenientes de las paredes celulares de las plantas que no pueden ser hidrolizados por las enzimas del hombre a monosacáridos. De todos los polisacáridos el almidón sólo contiene los enlaces glicosídicos  $\alpha$  (1-4) hidrolizable por la amilasa. Los enlaces glicosídicos  $\beta$  (1-4) de la celulosa, los galacturonato  $\alpha$  (1-4) de las pectinas y los glicosídicos  $\beta$  (1-4) de los galactomananos, pentosanos y muchos otros polisacáridos de las plantas no son

hidrolizados por las enzimas del hombre. El almidón, polisacárido glicano unido por enlaces  $\alpha$  glicosídicos formado por dos compuestos distintos, la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímeros lineal sencillo de la  $\alpha$  glucosa y en muchos almidones representa aproximadamente el 25% del almidón total, aunque existe una considerable variación entre las distintas especies. La amilopectina, polímeros ramificado e el componente mayoritario de muchos almidones conocidos y está formada por enlaces  $\alpha$  (1-4) y  $\alpha$  (1-6) y se cree que corresponde a la molécula de almidón cristalina interpuesta entre los anillos de crecimiento. Los gránulos de almidón crece mediante la adición gradual de residuos de glucosa a la superficie de dichos gránulos en ves de por adición al nuevo material en el centro de los gránulos. La biosíntesis del almidón implica la biosíntesis a partir de la glucosa 1 fosfato y ATP. La industria alimentaria ha utilizado almidón con fines concretos para la preparación del engrudo y geles de almidón y jarabes de glucosa, maltosa o fructosa por hidrólisis. Los gránulos de almidón son prácticamente insolubles en agua fría, debido a los enlaces por puentes de hidrógeno existente entre los grupos hidróxilo de los residuos de glucosa, aunque se puede conseguir la liberación de las cadenas de amilosa particularmente en los gránulos dañados, de forma que las cadenas liberadas se pueden reagrupar formando un material de aspecto gomoso, este proceso se conoce como retrogradación y el producto como almidón retrogradado. La solubilización de los gránulos de almidón comienza a temperatura más altas (aproximadamente 55°C) a las que se rompen los puentes de hidrógeno entre los residuos de glucosa y entonces el grano de almidón absorbe agua. Durante el proceso de gelificación se pierde de forma permanente la estructura cristalina y en consecuencia la birrefringencia, mientras que los granos de almidón se empapan de hasta 100 veces su propio volumen de agua. El engrudo de almidón caliente, esta formado por agregados de moléculas dispersas, gránulos y fragmentos de almidón hinchados y por la amilosa solubilizada. La viscosidad del engrudo del almidón caliente se debe a la lenta pero continua liberación de pequeñas cantidades de amilosa. Los responsables de la asociación y gelificación del almidón son los puentes de hidrógeno intercadenas existentes entre los grupos hidróxido de la glucosa. En los geles, las cadenas de amilosa pueden adoptar la forma de doble hélice, sin embargo, el comportamiento reológico de los geles de almidón normales se debe probablemente a los gránulos de

almidón disueltos y a los gelificados. Las propiedades físicas del engrudo de almidón puede verse modificados por otras sustancias presentes en forma de impurezas o añadidos deliberadamente, por ejemplo, el cloruro de sodio reduce el hinchamiento y explosión de los gránulos mientras que el hidróxido de sodio lo acelera, los azúcares compiten con las moléculas del agua limitando así el hinchamiento en tanto que los gránulos lo inhiben. Los almidones sustituidos químicamente se han utilizado durante 25 años o más en la industria alimentaria. Como espesantes, estabilizantes e ingredientes de los postres congelados (Robinson, 1991).

La celulosa no es una fuente alimentaria para el hombre, aunque si se digiere en el rumen de los animales que comen hierba. Sin embargo, al ser un componente mayoritario de las paredes celulares de las plantas, la celulosa es un componente substancial de la dieta. Además se emplea en la industria alimentaria en forma microcristalina y en forma de derivados químicos como estabilizante y material de relleno. La celulosa natural es un material fibroso insoluble que no se degrada fácilmente por la acción de las enzimas, formado por residuos lineales de glucosa unidas mediante enlaces glucosídicos  $\beta$  (1-4). En general se cree que en la degradación de la celulosa natural primero se hidrolizan las regiones amorfas y después, aunque más lentamente las zonas cristalinas de las moléculas. Las paredes de las células de las plantas dicotiledóneas contiene aproximadamente un 35% de pectinas, siendo la lámina central presente entre las paredes celulares principal particularmente rica en estos compuestos. La pectina es en esencia un polímero lineal compuesto por residuos de ácido galacturónico esterificado unidos mediante enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1-4) axial-axial. Las preparaciones muy purificadas de pectina siempre contiene hasta el 5% de azúcares neutros que incluyen D-galactosa, L-arabinosa y L-ramnosa, se cree que este polisacárido consiste principalmente en un eje polimérico de ramnogalacturonano asociados con cadenas laterales de arabinanos y galactanos. Los niveles de proteína propuesta son aquellos considerados como necesarios para mantener la salud y necesidades fisiológicas de la mayor parte de los individuos de un grupo de población. La energía suministrada por el metabolismo de 1 gr de proteína desprende 4 Kcal, 1 gr de lípido 9 Kcal y 1 gr de carbohidratos 3.75 Kcal. En la mayor parte de las proteínas de las legumbres, el contenido de los aminoácidos esenciales de lisina, leucina,

junto con la arginina es substancial, mientras que el de la metionina, cisteína y triptofano es pequeño. Al igual que los cereales, las legumbres tienen cantidades sustanciales de glutamina y asparragina, pero el contenido de lisina es más elevado, la suplementación de cereales con harina de legumbre hace incrementar el valor nutricional de un alimento. Todas las legumbres contienen generalmente cantidades significativas de factores antinutricionales, como inhibidores de la tripsina y hemaglutininas, que en general pueden reducir la digestión y utilización de las proteínas (Robinson, 1991).

### **Superficie sembrada con frijol**

En el año agrícola 1990-1991 se detectó superficie sembrada con frijol en las treinta y dos entidades, la superficie nacional sembrada fue 2, 813, 176 ha. las entidades que presentaron mayor superficie sembrada fueron Zacatecas con 602,839 ha, Guanajuato con 239,615 ha, Durango con 229,538 ha, San Luis Potosí 199,578 ha, Chiapas 175,178 ha, Chihuahua con 174,736 ha y Sinaloa con 156,309 ha. La superficie anterior representa 63% de la superficie sembrada con esta leguminosa en el país (INEGI, 1997).

La producción nacional de frijol en el año agrícola de 1990-1991 fue de 1, 265, 234 ton. La producción fue en todo el país. Una cuarta parte de las entidades aportaron el 73% de la producción nacional siendo los principales productores: Zacatecas 20%, Sinaloa 13%, Nayarit 8%, Durango 8%, Chihuahua 7%, Chiapas y Guanajuato con 6%, cada uno y por último San Luis Potosí 4% (INEGI; 1997).

La superficie nacional sembrada con este cultivo corresponde a cada ciclo agrícola, así como su porcentaje con respecto a la superficie nacional sembrada con cultivo anual fue de 2,382,016 ha (18%) para primavera-verano y 431,160 ha (11%) para otoño-invierno (INEGI; 1997).

## **COMPOSICION QUÍMICA**

Ortega y Rodríguez (1979), citan que el frijol es la leguminosa de más alto consumo en México ya que tiene características especiales como: alto contenido de proteína, vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, niacina, sales minerales, ácidos orgánicos, ceras y lignina. Por su parte Ortega et al.

(1974) enfatiza que es un alimento de gran valor nutricional por la proporción de proteínas y carbohidratos que contiene.

Powrie et al. (1960), realizaron un estudio químico y anatómico e histoquímico de la semilla de frijol navy, encontrando que las cubiertas de semilla, cotiledones y ejes embrionarios constituyeron el 7.7, 90.5 y 1.8 respectivamente del peso seco de los frijoles maduros. Ellos mencionan que por peso, los 2 cotiledones de la semilla son los más importantes componentes. El epicotilo e hipocotilo constituyeron el eje del embrión. Ortega et al. (1974) mencionan que la composición química del grano se encuentra del 20 al 37% de proteína relativamente balanceada. Estos ejes embrionarios constituyen el 45.6% de proteína, la cual difiere de lo mencionado por Ortega et al. (1974) que es de un 20 a 37% de proteína relativamente balanceada. Por su parte Ortega et al. (1976) reportan para el genotipo Jal 132 y Mor 32 con más de 35% de proteína en base seca. En lo que respecta a la composición de aminoácidos Evans y Boutler (1974) citan para el frijol lima (*Phaseolus lunatus*) los siguientes aminoácidos: Asp, Thr, Ser, Glu, Pro, Gly, Ala, Val, Met, Ile, Lev, Tyr, Phe, His, Lys, Arg, Cys. Aunque por otro lado Ortega et al. (1974) indican que el frijol presenta aminoácidos limitantes de naturaleza azufrada.

En lo que refiere al tipo de proteína Rodríguez et al. (1979) señalan que los dos principales constituyentes proteicos de reserva de la semilla son las globulinas y albúminas. Osborne (1984) en su caracterización de las proteínas de las semillas señala que 20% de su peso seco es proteína y que de esta 80% son globulinas. Aguilar-Sagastume et al. (1979), mencionan que la fracción globulina de la semilla de frijol negro mecentral (*Phaseolus vulgaris* L.) consiste de 4 compuestos mayores: alfa, beta, gamma y delta con diferente movilidad electroforética. Otros autores como Chany y Sterlee (1982), Derbyshire et al. (1976) coinciden con Osborne (1984) en considerar que las semillas de frijol contienen mayor cantidad de proteínas de almacenamiento (globulinas) en comparación con las proteínas metabólicas. Con respecto a esto último Boulter (1983) clasificó a las proteínas de leguminosas en dos tipos: las metabólicas que se asocian a las actividades normales de la célula y catalizan la síntesis del segundo tipo; las de reserva o almacenamiento que son acumuladas en la semilla y subsecuentemente utilizadas para proporcionar nitrógeno y carbono para la biosíntesis y desarrollo de la planta durante la germinación. En cambio con

respecto a la cantidad de proteína en las leguminosas Bliss et al. (1973) consideraron que en ocasiones depende del tamaño y cantidad de cotiledones en las semillas y al medio ambiente. Las semillas de leguminosas son generalmente ricas en globulinas (Gardner et al. 1985).

Williams y Olmsted (1940) y Southgate (1969), mencionan que los carbohidratos pueden subdividirse en dos grandes grupos, los disponibles y no disponibles teniendo en cuenta la dieta diaria para el hombre. Asumen que los disponibles son aquellos que en una u otra forma son degradados en el tracto digestivo humano y constituyen un grupo de sustancias bien definidas: almidones, dextrinas y azúcares solubles. Los no disponibles son sustancias no hidrolizables por ninguna enzima secretada en el tracto digestivo humano, los cuales son químicamente menos conocidos: celulosa, hemicelulosa y otros polisacáridos solubles en agua, estos últimos forman parte de la pared celular (Pritchard et al. 1973; Mcconnell y Eastwood, 1974). Otros carbohidratos con características intermedias entre los disponibles y los no disponibles están algunos oligosacáridos que son catalogados como posibles factores antifisiológicos (Calloway et al. 1966).

Mattson y Haisman (1946 y 1962 citados en Sievwright y Shipe, 1986) sugirieron que los cationes divalentes aumentan la rigidez de las sustancias pécticas en la lámina media enlazándose con grupos de ácido urónicos libres.

De extracto etéreo Powrie et al. (1960) mencionan un 3.11% y 3.5% de cenizas en el frijol, esta última difiere al reportado por Ortega et al. (1974) que es de 2 a 5%.

Las semillas de leguminosas contienen numerosos compuestos con efectos negativos, entre los cuales destacan inhibidores de proteasas, fitohemaglutininas o lectinas, giotrógenos, cianógenos, factores antivitaminas, inhibidores de amilasas, flavonas e isoflavonas, glucósidos de pirimidina, fitatos y factores de flatulencia (Lindner, 1990).

Muñoz de Chávez et al. (1996) cita en su tabla de valores el proximal para diferentes variedades de frijol que se consume en México reportando rangos para fibra<sub>g</sub> (2.90 frijol rosita a 6.0 frijol rojo de liebre); humedad% (4.8 frijol azufrado a 14.0 frijol blanco); grasa<sub>g</sub> (1.50 frijol azufrado a 2.8 alubia); proteína (14.20 frijol amarillo a 22.90 frijol rosita); carbohidratos (52.0 frijol blanco a 67.10 frijol amarillo).

## Humedad

Con respecto al contenido de humedad Powrie et al. (1960) comentan que el alto contenido de humedad en los ejes embrionarios es de un 70% de los frijoles remojados y se debe a la gran cantidad de proteína hidrofílica en las células. En cambio las cubiertas de la semilla presentan un promedio de humedad de 76.6%.

## Carbohidratos

Ortega et al. (1974) mencionan que el almidón corresponde a más de la mitad del extracto libre de nitrógeno, el cual representa a grosso modo los carbohidratos, señalado también por Ortega (1979). Por su parte Powrie et al. (1960) indican que el contenido de almidón de los cotiledones es de 39.3%.

Por su parte Ortega y Rodríguez (1979) realizaron un estudio sobre los carbohidratos en variedades mexicanas de frijol, analizando 68 genotipos, los clasificaron en 7 grupos de los cuales 6 corresponden a *Phaseolus vulgaris* L. y uno a *Phaseolus coccineus* L., determinando en el grano crudo reductores directos, indirectos, totales y almidón. Ellos mencionan que en *P. vulgaris* L. los azúcares solubles y el almidón están en menor proporción que en *P. coccineus*. Indican también que el almidón está en proporción con respecto al tamaño del grano. Señalan que los grupos Bayo y Ayacote presentan los contenidos de azúcares más altos.

Las pentosas, polímeros de moléculas de azúcar de 5 carbonos son usualmente encontradas en las cubiertas de ciertas semillas. Las pentosas embeben el agua fuertemente. Algunas semillas de leguminosas son ricas en mananas polímeros de cadenas larga de azúcar. Las péctinas carbohidratos de polímeros de cadena larga de ácido galacturónico están unidas entre las paredes celulares (lámina media) de las semillas. Las pectinas son compuestos principalmente de ácido péctico y propectinas y sales de calcio y magnesio. Otros carbohidratos frecuentes en las semillas incluyen estaquiosa (un tetrasacárido), rafinosa (trisacárido), sacarosa (disacárido), la reserva se almacena en raíces y tallos, pero no en semillas (Gardner et al., 1985).

El mayor contenido de carbohidratos es de 50 a 60% del peso seco del frijol común (Sathe et al. 1985). El rango en contenido de almidón es de 35 a 60% del peso seco del frijol (Maza-Calviño, 1988). El contenido de oligosacáridos de la familia rafinosa (rafinosa,

estaquiosa y verbascosa) varía de 2 a 6%; otros carbohidratos del frijol común incluyen las sustancias pécticas arabinogalactanas y xiloglucanas (Reddy et al. 1978).

### **Fitatos**

Schwimmer y Burr (1977), investigaron la difusión e hidrólisis enzimática en la eliminación de fitatos de frijol seco entero. Ellos mencionan que el frijol California Small White contiene cerca del 1% de fitatos, del cual el 70% se presenta en forma hidrosoluble. La incubación en buffer con pH 5.5 a 50°C por 24 hrs lo redujo en 62% mencionan también que cuando la precolación fue eliminada a 60°C durante la noche, el 33% de fitatos fue destruido por hidrólisis, sugiriendo con esto que la destrucción de las membranas celulares sensibles al calor conducen a la potenciación de la fitasa.

La fitina esta concentrada en la aleurona en los cereales y en los cotiledones en los cotiledones. Las especies y cultivo varían en contenido de fitina (Gardner et al. 1985).

### **Fitatos y minerales**

Crean y Haisman (1963), estudiaron la interacción del ácido fítico y los cationes divalentes durante el cocimiento de guisantes secos, encontrando que los experimentos sobre el efecto del ambiente iónico en la composición de sales mezcladas de Ca y Mg del ácido fítico indican que la composición del fitato insoluble en guisantes varía entre las sales dihidrógeno dimagnesio tricalcio y la dihidrógeno trimagnesio dicalcio. Debido a que el cocimiento en agua extremadamente dura combina solo el 60% del fitato total con los guisantes y las curvas de absorción muestran que los fitatos insolubles corresponden solo a una parte de los iones absorbidos. Concluyendo que la influencia de los iones fitato sobre la textura es pequeña. En el año de 1985, Glennie, Cilliers y Geyer, mencionan que el fitato juega un importante papel en el almacenamiento de elementos minerales en cereales de grano. Indican también que el fitato es 1,2,3,4,5,6, hexa (dihidrogen fosfato) mioinositol el cual es el mayor de los fósforos almacenados en cereales de grano y esto usualmente ocurre como una mezcla de sales de calcio, magnesio, potasio y zinc. Citan también que debido a que el fitato reduce la biodisponibilidad de elementos minerales importantes, es esencial entender cualquier proceso tal como la germinación el cual afecta esta actividad. Sugieren que en

conjunto con el contenido de fitatos es importante estudiar el contenido de elementos minerales del grano durante la germinación. Por su parte Honig y Wolf (1987), en su estudio sobre contenido de fitatos y minerales y solubilidad de aislados de proteína de soya, reportando que el Ca y Fe se asocian más con proteínas de soya insolubles de pH 89°C con las solubles. Mencionan también que algunos minerales, ácido fítico y proteína pueden ser solubles a pH 8 debido a la asociación, no especifican cuánta proteína está involucrada. Indican que todos los minerales se enlazan a las proteínas a un pH 8. El enlace del Fe y del Cu varían poco con el pH. También encontraron que el ácido fítico y no el hierro se disoció de las proteínas en la cromatografía de gel a un pH casi neutro. Laszlo (1987), estudió las propiedades de enlace de minerales en la cámara de soya. Interacciones del modelo de los minerales con una fuente de fibra dietética, encontrando que la fibra dietética puede influir en la absorción de minerales esenciales del tracto gastro intestinal. El utilizó el tejido de la pared celular de la cubierta del grano de frijol de soya, empleado como sustrato para modelar las propiedades de intercambio de iones de fibras dietéticas insolubles. Se utilizaron ecuaciones para predecir el grado de enlace catiónico. Desarrollaron también métodos para evaluar con precisión los parámetros de enlace catiónico de este modelo, incluyendo la concentración de sitios de enlace catión-aniónico fijos y las constantes de disociación de esos sitios para  $H^+$ ,  $Ca^{2+}$  y  $Zn^{2+}$ . El reporta que el modelo predijo el grado de enlace de cationes en sistemas de intercambio catiónico monovalente/divalente, divalente/divalente o el triángulo monovalente/divalente/divalente. Sin embargo, él indica que el grado de asociaciones fue mayor que el esperado, con esto el sugiere que la cámara de soya puede no enlazar minerales a un grado de pH bajo o en condiciones de fuerza iónica altas encontradas en el tracto intestinal.

Karlen y Hunt (1982) en su investigación sobre la acumulación y distribución de K, Ca y Mg en solución determinada de cultivos de soya, cultivado con y sin irrigación, no relacionan estrechamente la producción de materia seca o total de la semilla de frijol o a la cantidad de K, Ca o Mg acumulado. Sin embargo mencionan que con la irrigación durante la sequía corta de 1979, la producción de semilla fue menor que la producción irrigada en 1978. Varios factores como una densidad más baja de plantas y posible estrés de  $O_2$  durante el desarrollo de la vaina, pudieron contribuir a la baja producción de 1979, pero las

concentraciones de K, Ca y Mg no parecen haber sido factores limitantes en ningún año 1978 o 1979 en cuanto a producción.

Moreno et al. (1994) mencionan para algunas especies del frijol valores de los minerales Zn<sub>ppm</sub> (5.38, 2.88 y 2.56) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada), Fe<sub>ppm</sub> (3.24, 1.61 y 3.26) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada), Mg<sub>ppm</sub> (1.03, 1.00 y 1.02) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada), Cu<sub>ppm</sub> (0.22, 0.24 y 0.36) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada), Ca<sub>ppm</sub> 360, 240 y 185) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada) y Mg<sub>ppm</sub> (44.6, 39.7 y 36.1) para *Phaseolus* sp, *P. vulgaris* (semicultivada) y *P. vulgaris* (cultivada), respectivamente.

Muñoz de Chávez et al. (1996) citan en su tabla de valores los ppm de minerales para Ca, P, Fe, Mg, Na, K y Zn en las diferentes variedades de frijol que se consumen en México reportando rangos para el Ca (132 alubia a 347 frijol amarillo); P (247 frijol bayo gordo a 488 frijol amarillo); Fe (4.60 frijol rosita a 6.90 frijol palacio); Mg (159 frijol ojo de liebre a 222 frijol negro); Na (8 frijol rosita a 25 frijol palacio); K (1038 bayo gordo a 1444 frijol rosita) y Zn (2.50 bayo gordo a 3.67 frijol blanco).

El calcio disminuye en el cocimiento y el descenso es mayor en el control que en las muestras almacenadas a 32°C. Los niveles de magnesio fueron 1/3 a ¼ de los del calcio mostrando similar tendencia a la baja durante el cocimiento. El contenido de Mg en los cotiledones es dos veces mayor que el calcio, lo cual se invierte en las cubiertas de la semilla. Los cotiledones remojados sin cocer, perdieron Mg y K en una cantidad, inversamente proporcional al contenido de humedad de los frijoles durante el almacenaje (Moscoso et al. 1984). Estos datos apoyan el estudio de Harman y Glanet (1972 citado por Moscoso 1984) quienes reportan un aumento en la pérdida de Mg y K en chícharos almacenados, durante el remojo. Ellos contribuyen esto al rompimiento de la membrana plasmalema en los cotiledones (Moscoso 1984). El nivel de potasio declinó cuando el cocimiento pasó de 15 minutos (Moscoso 1984)



productos guisantes o chícharos sin considerar el contenido de zinc (2) a un nivel adecuado de calcio la germinación mejoró la disponibilidad del Zn de los guisantes; (3) a niveles de Zn marginales se incremento el ratio Zn/Fosfato; (4) la disponibilidad de Zn desde brotes de chícharo enteros fue superior a las de las dietas purificadoras con proporciones similares de Zn/fitato.

### Compuestos fenólicos

En el estado crudo el frijol común contiene ciertas sustancias antinutricionales y tóxicas que incluyen polifenoles, fitatos, inhibidores enzimáticos, fitohemaglutininas y factores de flatulencia y cianogénesis (Sgarbieri et al. 1979). Estas sustancias son generalmente eliminadas por el lavado con la subsecuente eliminación del líquido y/o tratamiento con calor a relativa elevada temperatura. Porque de su relación con la cocción y desarrollo del fenómeno del alto tiempo de cocción solamente los polifenoles y fitatos pueden ser analizados.

Los compuestos fenólicos clasificados como ácidos fenólicos y derivados, taninos y flavonoides son algunos de los más numerosos y ampliamente distribuidos de productos naturales en el reino vegetal. En años recientes se ha incrementado su atención como resultado de su influencia en la nutrición y cualidades estéticas de los alimentos funciones bioquímicas y fisiológicas e implicaciones farmacológicas (Mutschler y Bliss, 1981).

Los compuestos fenólicos son una larga cadena de compuestos químicos que tienen cuando menos un anillo aromático uno o más grupos hidróxilos junto con un número de otros sustitutos. El principal o más común constituyente fenólico de las plantas puede ser dividido ampliamente en 2 importantes grupos: 1) ácido fenólico y cumarinas ( $C_6-C_1$  y  $C_6-C_3$  estructura) y 2) compuestos fenólicos, incluyendo antocianinas ( $C_6-C_3-C_6$  estructura) (Desphande et al. 1986). Los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina, son involucrados en la biosíntesis de un número de otros compuestos fenólicos (Desphande et al. 1984).

Los fenoles poliméricos pueden ser distinguidos más adelante en 2 grupos amplios: taninos y ligninas. Los taninos comprenden un grupo heterogéneo de polifenoles de plantas, todos capaces de combinarse con proteínas. Los taninos son compuestos de alto

peso molecular (500 a 5000 mol/wt) conteniendo suficientes grupos fenólicos hidróxilo que permite la formación de cadenas estables con proteínas. La presencia de ortodihidroxifenoles parece ser esencial para formar cadenas de hidrógeno con grupos en las proteínas hidrofóbica, puede ser una importante contribución a la estabilidad del complejo (Bauer y Niebes, 1976).

### Determinación de taninos

Hammerschmidt y Pratt (1978) en su investigación sobre los antioxidantes fenólicos del frijol de soya seco, cita que se estudiaron semillas de frijol de soya para determinar la naturaleza de su actividad antioxidante. Mencionan que la actividad fue medida basándose en la tasa de blanqueamiento de caroteno en la oxidación de ácido linoleico y B-caroteno, encontrando que un pentóxido isoflavon fue determinado como el responsable de la actividad antioxidante. Por su parte Deshpande y Cheryan (1987), determinaron compuestos fenólicos de frijol seco usando pruebas de precipitación, vainillina y redox, utilizando diez genotipos de frijoles secos. En el método de la vainillina al 0-5% los taninos fluctuaron de 49-306 ppm equivalentes de catequina/100 g de frijol.

El contenido de taninos en el frijol va en un rango de 0.0 a 2.0 % dependiendo de la especie del frijol y color de la testa de la semilla (Reddy et al. 1985).

Bressani et al. y Bressani y Elias (1980), observaron baja cantidad de taninos en variedades blancas que en las negras, rojas y bronce de *Phaseolus vulgaris*.

Ma y Bliss en un estudio sobre contenido de taninos de 29 variedades de frijol de *Phaseolus vulgaris* usando una técnica de vainillina-HCl y concluyen que las variedades de semillas blancas contienen grandes cantidades de estos compuestos. Observaciones similares fueron hechas por Deshpande et al. y Deshpande y Cheryan (1984, 1983).

La mayor cantidad de taninos son localizados en la cubierta de la semilla (Bressani y Elias, 1980). Con baja o nula cantidad en los cotiledones; los taninos condensados constituyen la principal porción del contenido de taninos del frijol (Reddy et al. 1985).

Los efectos antinutricionales de los taninos del frijol han sido reportados en diferentes pruebas con animales y especies (Deshpande et al. 1982).

Price y Butler y Deshpande et al.(1980, 1982), revisaron los efectos nocivos de varios tipos de taninos y los agruparon en las siguientes categorías: depreciación de alimentos para consumo, formación de complejos de taninos con las proteínas de la dieta y otros componentes del alimento, inhiben enzimas digestivas, incrementan la excreción de proteínas endógenas, efecto de taninos en el tracto digestivo y toxicidad de absorción de taninos y sus metabolitos.

La lignina son complejos de polímeros tridimensionales unidades de fenilpropanoide (C6-C3) que entrecruzan y penetran la celulosa de las paredes celulares de las plantas superiores contribuyendo a su mecanismo de resistencia y rigidez. La lignina de monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas puede mostrar ligeras diferencias estructurales, porque diferentes ligninas son conocidas por producir diferentes aldehídos aromáticos cuando son sujetas a oxidaciones por nitrobenzeno alcalino (Deshpande et al. 1986).

Algunos métodos de procesamiento y tratamientos químicos han sido usados para eliminar los taninos de las legumbres. Estos incluyen la remoción física de taninos por molido y separación de la cáscara, lavado, cocinado, germinación cruzas, adición de agentes que formen complejos con los taninos de las dietas, adición de agentes que ayuden en la detoxificación metabólica de taninos y tratamientos químicos.

Los taninos son localizados principalmente en la cubierta de semillas, la remoción física de ellos por cualquiera de los métodos de dehullin o molido o separación de la testa puede decrecer el contenido de taninos en frijol y mejorar sus cualidades nutricionales (Bressani y Elias, 1980). El descascarillado elimina 68 a 95% de taninos en el frijol común (Deshpande et al. 1982). Sin embargo el descascarillado mecánico de semillas puede también afectar la pérdida de proteínas y otros nutrientes, los cuales pueden parcialmente compensar los efectos benéficos de la remoción de taninos por descascarado (Reddy et al. 1985).

Deshpande y Cheryan y Sathe y Salunkhe (1983, 1985) reportan reducción en el contenido de taninos de algunos frijoles por lavado en diferentes soluciones. Es posible que al menos algunos taninos puedan difundirse dentro de los cotiledones y ligado con proteínas durante el lavado (Bressani et al. 1982, Butler et al. 1980). El lavado de los

frijoles en bicarbonato de sodio o mezcla con soluciones salinas remueve taninos del frijol común más significativamente que si son lavados en agua (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

### **Cambios en el contenido de taninos**

Goldstein y Swain (1963), realizaron un estudio sobre los cambios en contenido de taninos en frutos en maduración reportando que métodos simples para la separación de taninos (flavolanos) de diferente tamaño molecular y la determinación del grado de polimerización han sido usados para estudiar los cambios en esos compuestos en varios frutos en maduración. Concluyendo que la pérdida de astringencia la cual ocurre en la maduración, está probablemente conectada con el aumento de polimerización de taninos.

Los taninos han sido clasificados en 2 grupos, basado en su tipo de estructura hidrolizables y condensadas. Los condensados son los más ampliamente distribuidos en las plantas superiores (Schanderl, 1970). Los taninos condensados también referidos a procianidinas son principalmente flavonoides o polímeros de flavan-3-ols (catequina) y/o flavan3:4diols (leucoanticianidina) (Deshpande et al. 1986).

Los frijoles comunes crudos son relativamente buena fuente de vitaminas solubles en agua, especialmente tiamina (0.86 a 1.14 ppm/100g), riboflavinas (0.136 a 0.266 ppm/100g), niacina (1.16 a 2.68 ppm/100g), vitamina B6 (0.336 a 0.636 ppm/100g) y ácido fólico (0.171 a 0.579 ppm/100g). El valor de retención de nutrientes durante el cocinado varía de 70.9% (Vitamina B6) a 75.9% (riboflavina) (Augustin y Klein, 1989).

El ácido fítico y las proteínas pueden formar complejos con los minerales esenciales de la dieta tales como Ca, Zn, Fe y Mg haciéndolos no disponibles para la absorción (Fritz, 1976).

### **Lípidos**

Los ácidos grasos poliinsaturados tales como linoleico y linolénico, no pueden ser sintetizados por animales y humanos y estos 2 ácidos son requeridos para el normal crecimiento, estructura de las células, funciones de todos los tejidos y síntesis de prostaglandinas (Lehninger, 1986).

El efecto bajo de los niveles del colesterol sérico en las ratas puede ser atribuido a los ácidos grasos poliinsaturados como linoleico y linolénico (Mahadevappa y Raina, 1978).

Los lípidos del frijol común pueden contener apreciables cantidades de ácidos grasos libres y en general tienen potenciales altos de oxidación (Parrish y Leopold, 1978).

La oxidación de lípidos puede ser considerada como enzimática (lipoxigenasas) y no enzimática (primeramente oxidativa), ambas dan paso a la producción de algunos hidroperóxidos que dan lugar a la producción de aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos, etc. Los productos secundarios producen compuestos indeseables al reaccionar con otros compuestos presentes en el sistema (Sathe et al. 1985).

Los lípidos neutros son la clase de lípidos en el frijol común variando de 32 a cerca de 45% del total de lípidos (Mahadevappa y Raina, 1978).

Los lípidos neutros están hechos primeramente de triacilglicéridos acompañados por pequeñas proporciones de ácidos grasos libres, esteroides y éster de esteroles; fosfolípidos los cuales son componentes esenciales de la membrana de semillas, están también presentes en cantidades apreciables (Paredes-López, 1989). Los fosfolípidos varían de 28 a cerca de 34% del total de lípidos (Mahadevappa y Raina, 1978).

Los lípidos en el frijol común muestran una cantidad significativa de variabilidad en la composición de ácidos grasos y contienen cantidades substanciales de ácidos grasos insaturados (Patte et al. 1982). Ácido oleico (7 a 10%), linoleico (21 a 28%) y linolénico (37 a 54%) son los principales ácidos grasos insaturados. También contienen ácidos grasos saturados como el ácido palmítico, el cual puede estar en un rango de 10 a 15% del total de lípidos (Exler et al. 1977).

La lignina, celulosa y algunas hemicelulosas constituyen la porción de fibra dietética insoluble, mientras que la pectina, alguna hemicelulosa y otros polisacáridos forman la fibra dietética soluble (Olson et al. 1987).

El frijol común contiene de 1 a 3% de lípidos, dependiendo de la especie (Patte et al. 1982).

El contenido total de lípidos puede variar dependiendo de la variedad, especies, origen, localidad, clima, condiciones ambientales y tipo de suelo en el cual ellos están creciendo (Worthington et al. 1972).

### **Proteínas**

Estudios sobre variación genética u herencia de composición de aminoácidos han sido centrados sobre el contenido de aminoácidos azufrados metionina y cisteína porque son los aminoácidos esenciales limitantes en las proteínas del frijol (Evans et al. 1978).

En un estudio usando diversas líneas de composición de proteínas encontraron una correlación significativa positiva entre metionina disponible y niveles de faseolinaa en 3 de las 4 poblaciones (Gepts y Bliss, 1984), "faseolinaa" es la principal fuente de metionina disponible en la semilla.

Las lectinas ocurren en ambas fracciones albúminas y globulinas de las semillas del frijol y ellas son el componente principal de la fracción globulin 2. Hay 2 subunidades de la siolectina son la R y L, la L con actividad aglutinante de los leucocitos y la R con actividad mitogénica (Mahadevappa y Raina, 1978). Las subunidades L y R tienen idéntico peso molecular aproximadamente 34,000 pero difieren en el punto isoeléctrico el cual varía de 4.9 a 7.9, pero más esta en el rango de 5 a 6.56 (Miller et al. 1975).

La arcelina precipita a ambas fracciones albúmina y globulina; la proteína nativa tiene un alto peso molecular de 80, 900 correspondiendo de dímero de subunidades polipéptidos. La arcelina parece ser muy similar a lectina en algunos aspectos; la arcelina tiene alguna actividad aglutinante con proporción a células tratadas o la sangre. La composición química de la arcelina es muy similar a la de la lectina (Osborn et al. 1988).

Ma y Bliss (1978), fraccionando las proteínas del frijol de algunos cultivares encontraron que el % del total de proteínas de ese material contenía 35 a 46% de globulina I o faseolinaa, 12 a 16 albúminas, 2 a 4 prolaminas y 20 a 30 de albúminas solubles en álcalis. Sathe y Salunkhe (1981) encontraron que las albúminas y globulinas contenían en un 21.2 y 73.4% respectivamente del total de proteínas de los frijoles comunes de Great Norteen.

Los factores que están influenciando las cualidades nutricionales de la proteína del frijol común incluye el patrón de aminoácidos y el grado de digestibilidad (Bressani, 1975).

Varios nombres han sido usados para nombrar a las lectinas: fitoaglutinina o fitohemaglutinina, glicoproteína I y proteína II.

Las lectinas pueden jugar un papel importante en la fisiología de la planta (Osborn, 1988). Algunas de las funciones son: actúan como anticuerpos que contrarrestan las bacterias del suelo, protegen sobre el ataque de hongos, participan en la transportación o almacenaje de azúcar, ataca la glicoproteína enzima en sistemas organizados de multienzimas y juega un papel en el desarrollo y diferenciación de células embrionicas (Liener, 1979). Las lectinas son de importancia comercial debido a su contribución en el pobre valor nutricional en harinas de frijol crudo (Jaffe y Vega-Lette, 1968).

La principal fracción proteica del frijol común es una glicoproteína que constituye del 40 a 60% del total de la proteína. Esta proteína fue primeramente aislada y caracterizada y llamada faseolina por Osborne (Osborne, 1894). Esta ha recibido otros nombres como vicilina, glicoproteína II, globulina I, enfaseolina y  $\alpha$  globulina (Osborn, 1988).

La faseolina es una proteína globulina que es completamente soluble en 0.5 M NaCl en todos los valores de pH. Tiene un coeficiente de sedimentación de 3.05, 7.15 y 18.25 a pH 12, 7 y 3.6 respectivamente (Sun et al. 1974). La faseolina consiste de un grupo de subunidades de polipéptidos con alto peso molecular de 43,000 a 54,000 y un punto isoeléctrico en un rango de pH 5.6 a 5.8 (Brown et al. 1981).

En 1908, Landsteiner y Raubitschek (1908) reportan la habilidad de extractos de semillas de frijol para aglutinar las células rojas de la sangre de varias fuentes de animales. La llamaron "lectina" a la proteína responsable de esta actividad (Boyd y Shopleigh, 1954).

Los frijoles tienen atributos indeseables tales como el largo tiempo de cocción, enzimas inhibitoras, fitatos, factores de flatulencia y compuestos fenólicos, hemaglutininas (lectinas) y alergenicos, los cuales pueden ser removidos o eliminados para ser más efectiva su utilización (Gupta, 1987).

Las lectinas son glicoproteínas con la única propiedad de ser capaces de ligar sacáridos y sacáridos conteniendo proteínas de una manera altamente específica. Además

de aglutinar los eritrocitos, las lectinas pueden interactuar con otro tipo de células (Sgarbieri y Whitaker, 1982).

El crecimiento puede influir sustancialmente en el contenido de proteína del frijol (Sathe et al. 1984).

Las mayores proteínas de almacenamiento del frijol común *Phaseolus vulgaris* son la faseolina y fitohemaglutinina (PHA) también referida como lectina (Osborn, 1988). Otra fracción de proteína que es considerada como importante es llamada Arcelina (Osborn, 1988).

El % de proteína es muy variable en los cultivares de frijol común. Los valores varían en un rango de 16 a 33% estos han sido reportado después de analizar diversas líneas de frijol (Osborn, 1988).

Meiners et al. (1976) determinaron el contenido de proteína de 3 lotes de 10 clases de frijol común, encontrando un rango de 17.8 a 26.4%. Deshpande et al. (1984), estudió los cultivares de frijol común y reportó un rango de 18.1 a 23.4% del contenido de proteína; Koehler et al. (Kon, 1968), analizó 36 cultivos representados por 8 tipos de frijol común y reportó un rango de 19.6 a 32.2% del contenido de proteína.

El % de proteína depende de la expresión genética la cual controla la síntesis y acumulación de la fracción proteica. Pero también estos genes controlan otros factores, tales como adquisición de nutrientes, vigor de la planta, maduración, rendimiento de la semilla, tamaño de la semilla, síntesis y acumulación del almidón en la semilla (Osborn, 1988). También factores, tales como localización, geografía y estación del año.

Durante el almacenamiento se encontró un aumento significativo ( $P \leq 0.05$ ) para una fracción de bajo peso molecular en condiciones de alta y media humedad. Al mismo tiempo una fracción de alto peso molecular disminuyó significativamente ( $P \leq 0.05$ ). Con el aumento de temperatura y humedad. La consideración de polipéptidos pequeños y aminoácidos aromáticos con el desarrollo del defecto dureza de crecimiento sugirió una relación entre esos fenómenos (Hohberg y Stanley, 1987).

La presencia de ácido fítico en frijoles introduce a serie de complicados factores en la producción de concentrado de proteínas y aislamiento, en el aislamiento, purificación homogénea de proteínas del frijol (Chang y Satterlee, 1982).

Numerosos estudios han llegado a la conclusión que el ácido fítico y derivados pueden unir minerales esenciales de la dieta, haciendo de ellos indisponibles o solamente parcialmente disponibles para su absorción (Maga, 1982). Los fitatos en la dieta interfieren con el metabolismo de los minerales principalmente Zn (Erdman, 1979) Ca (Erdman y Forbes, 1977). Hay controversias sobre el efecto del fitato en la disponibilidad del hierro (Sathe y Krisnamorthy, 1953). Otros autores no han encontrado este efecto. Los fitatos en semillas oleaginosas se piensan que afecta la biodisponibilidad de los minerales traza como Cu, Mn, Mo y Co (Erdman, 1979).

Lolas y Markakis (1975) indican que un 99.6% del total del ácido fítico en frijol esta en forma soluble en agua.

La interacción del ácido fítico con proteínas y minerales es considerado uno de los principales factores limitantes del valor nutritivos de leguminosas y proteína. La habilidad de los fitatos de formar complejos con proteínas y minerales y la consecuencia de esas interacciones han tomado interes de ambos aspectos químico y nutricional (Cheryan, 1980). La interacción proteína-fitato y sus efectos sobre la digestibilidad de la proteína han sido reportados (De Rham y Jost, 1979). Algunas investigaciones (Camus y Laporte, 1976; Cawley y Mitchell, 1968) han encontrado que el ácido fítico puede inhibir enzimas tales como las pepsinas, alfaamilasas y tirosina. Sin embargo recientes trabajos demuestran que los fitatos no interfieren con la digestibilidad de las proteínas in vivo o in vitro (Deshpande y Damodaran, 1989).

Los procesos que se han utilizado para la remoción de fitatos están: la germinación y la fermentación, estos parecen ser efectivos en el decremento en la concentración de fitatos, mientras que el lavado y cocinado puede remover 50 a 80% o más del fitato endógeno en semillas de frijol (Sathe y Salunkhe, 1985).

## PROCESADO Y COCCION

Bigelow y Fitzgerald (1918 en Sieuwright y Shipe 1986) observaron que el agua dura hacia difícil el cocimiento de los frijoles y que este efecto se redujo al agregar bicarbonato de sodio al agua de remojo.

Kon (1968), realizó un estudio sobre sustancias pécticas de frijoles secos y su posible correlación con el tiempo de cocimiento, encontrando que hay un aumento notorio en el tiempo de cocimiento para los frijoles de alta humedad que se almacenaron por 4 años. La diferencia entre nitrógeno, fósforo y calcio fue poca. El reporta que la diferencia en las sustancias pécticas totales extraídas de los frijoles a alta y baja humedad no fue significativa. El método de fraccionamiento usado en estos experimentos lo diseñó para separar las sustancias pécticas en tres fracciones: La fracción hidrosoluble compuesta de metoxilada y pectina; la fracción soluble en EDTA 1% de pH 6 compuesta de sales Mg y Ca. y la fracción soluble en NaOH 0.05 N compuesta de protopectina. El encontró altos valores obtenidos de sustancias pécticas totales extraídas con alfa-amilasa. En el mismo año Burr estudió el efecto del tiempo y temperatura del almacenamiento y el contenido de humedad sobre la tasa de cocimiento de frijoles secos, empleando un método objetivo para determinar la capacidad de cocimiento. Concluyó que la calidad de cocimiento de los frijoles con un contenido de humedad de 10% o menos no cambia mucho a pesar del tiempo y temperatura de almacenaje. A contenido de humedad arriba del 10% la calidad de cocimiento se deteriora, en correlación con temperatura y tiempo de almacenaje.

Jehangir et al. (1986) investigaron los componentes químicos y características de cocinado de 3 leguminosas encontrando para *Pisum arvense* proteína cruda 24.5% (8.5% humedad base), para *Vigna aconitifolia* 22.7% de proteína (10% de humedad base) y para *Cajanus cajan* 21.3% (10% humedad). La proporción de cocinado peso/seco peso después del cocinado de la semilla entera a desollejada fue 2.14 y 2.18, 2.20 y 2.30 y 2.40 y 2.45 para *P. arvense*, *V. aconitifolia* y *C. cajan*, respectivamente. El desollejado incremento la proteína, grasa y contenido de energía pero disminuyó la ceniza y contenido de fibra así como también el tiempo de cocción; en lo referente al cocimiento la retención de los nutrientes fue buena.

González-Flores (1990) en su trabajo sobre caracterización fisicoquímica e implicaciones nutricias de las lectinas de frijol tepari (*Phaseolus acutifolius*) y sus híbridos, reporta tiempos de cocción cortos en frijoles blancos (71-145 min), mientras que los frijoles silvestres requieren tiempos más largos (244-470 minutos) de cocción.

Paredes-López et al. (1991) en su investigación sobre la influencia del proceso de endurecimiento y el remojo del frijol sobre la calidad de cocción en dos variedades de frijol

común (*Phaseolus vulgaris*) sembrado en la misma localidad, cosechado y limpiado. Los procesos utilizados para el endurecimiento fueron: remojo en buffer de acetato, pH 4.1 a 37°C por 5 horas; almacenados a 37°C 100% de humedad relativa por 28 días; almacenados de 31 a 33°C con 76% de humedad relativa por 120 días. Después de los tratamientos las semillas fueron evaluadas.

Las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de las legumbres incluyen entre otras: rango de temperatura de gelatinización, absorción de agua, gelatinización, hidratación, solubilidad y propiedades de pasting (Hoover y Sosulski, 1985). Algunos investigadores (Desphande y Damodaran, 1990; Lai y Varriano Marston, 1979) sugieren que algunas de estas propiedades pueden ser responsables del tiempo de cocción de las legumbres.

Hay una alta correlación positiva entre el ablandamiento con la disolución de sustancias pécticas en cubiertas de semillas y cotiledones ( $r = 0.96$  semilla y  $r = 0.97$  cotiledón). Esto apoya la teoría de que los cambios en la sustancias pécticas son responsables en los cambios en las propiedades de cocimiento de frijoles secos (Rockland y Jones, 1974; Sefa-Dedeh, 1979 citados por Moscoso et al.1984).

Las semillas almacenadas a 2°C no mostraron cambios significativos en el fósforo del ácido acético durante el período de 9 meses. Los que se almacenaron a 32°C mostraron descenso en el contenido de este ácido, siendo las muestras de mayor humedad las más afectadas. El contenido de fósforo (ácido fítico) de los frijoles remojados se correlacionó bien con la tasa de ablandamiento ( $r = 0.96$ ) y las de disolución ( $r = 0.95$ ) y del cotiledón ( $r = 0.92$ ). Esto sugiere que un alto contenido de dicho ácido favorece una tasa rápida de ablandamiento y disolución de las sustancias pécticas haciendo más cocinables los frijoles (Moscoso et al.1984). Estos resultados confirman lo encontrado por Kan (1979), Kumar (1978), Mattson (1950) y Smithies (1960) quienes encontraron una buena correlación entre un bajo contenido de ácido fítico y la cocción de las legumbres (Moscoso et al. 1984).

El cambio en la textura del grano durante la cocción se debe a cambios estructurales y de composición de la pared celular (Varriano-Martson y Jackson 1981, Jones y Boutler 1983 citado por Bernal-Lugo, 1987).

Durante el proceso de cocción el grano de frijol hidratado por el remojo previo, se suaviza. Este cambio en la textura del grano es consecuencia de la solubilización de la lámina media, lo cual permite la separación de las células adyacentes del cotiledón (Sefadode y Stanley, 1979 en Bernal-Lugo, 1987). La solubilidad del material intercelular que forma la lámina media depende de la cantidad de calcio y magnesio que interaccionan con las sustancias pécticas (Goodwin y Mercer, 1983 en Bernal-Lugo, 1987).

La variación de la solubilidad también se daría si los cationes son quelados por el ácido fítico y/o las proteínas de reserva, ya sea porque los cationes se movilizan al interior del protoplasto o porque los quelantes (como ácido fítico o proteínas) se movilizan hacia el exterior y al pasar por la pared celular interaccionan con los iones divalentes y los arrastran consigo y aumenta de esta manera la solubilidad de la pectina (Bernal-Lugo, 1987).

Se ha determinado en frijoles cocidos que el contenido de péctinas  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  presentes en la pared celular es menor en el frijol crudo (Moscoso et al. 1984 citado por Bernal-Lugo, 1987).

El contenido de humedad del frijol se encontró relacionado con el tiempo de cocimiento. En general, a mayor contenido de humedad después del remojo, menor fue el tiempo de cocimiento. Sin embargo presentaron diferencias en tiempo de cocimiento entre muestras frescas y viejas a pesar del contenido de humedad del frijol (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

El mayor obstáculo para el empleo de frijoles secos es su capacidad de cocimiento reducido después de almacenados a alta temperatura y humedad (Burr, 1968 citado por Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Otros autores establecen que no hay relación entre el tiempo de cocimiento y la tasa de embebimiento (Burr, 1968 y Molina, 1976 en Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Hay dos tipos de cáscara dura: la relativa a la impermeabilidad de la cubierta de la semilla y la relativa a la impermeabilidad del cotiledón (Morris, 1950 en Jackson y Varriano-Marston, 1981). En el primer caso la remoción de la cubierta elimina su impermeabilidad, pero no se ha reportado ningún remedio para la impermeabilidad del cotiledón.

Contenidos de humedad mayores al 6% la estructura del cuerpo proteico se modifica (pérdida de integridad por ruptura membranal) lo que permite la interacción entre la fitina y la fitasa con lo cual disminuyen los niveles de fitina. Cuando el frijol se encuentra en esta etapa de deterioro, el endurecimiento se revierte remojando los granos en una solución de EDTA antes de ser sometidos al proceso de cocción (Bernal-Lugo, 1987).

El tiempo de cocción fue inversamente proporcional al contenido de humedad. Aunque las referencias en tiempos de cocción entre muestras viejas y frescas persistieron a pesar del contenido de humedad del frijol (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

El efecto dureza de cocimiento se presentó en el grupo de alta temperatura-humedad (30°C 85%HR) y parcialmente en las muestras de temperatura media (25°C 65%HR) (Hohlberg y Stanley, 1987).

Algunas de las causas de envejecimiento del frijol son: oxidación de lípidos y/o polimerización, formación de pectinas insolubles, lignificación de la lámina media, cubierta de la semilla (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

En un estudio de 13 variedades (Muller en Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993) concluye que el grosor de la capa de empalizada de la testa es un parámetro importante en las cualidades del cocinado (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

La pérdida de electrolitos durante el remojo fue determinada por la conductancia específica de la lechada que fue paralela a la pérdida de sólidos y valores de conductancia a 18 horas fueron correlacionadas con la textura final de cocimiento ( $r = 0.999$ ,  $p < 0.01$ ) (Hinks et al. 1987).

Se ha demostrado que algunos parámetros ocurridos durante el remojo están correlacionados con la textura final del cocimiento (Hinks et al. 1987).

Durante el proceso de cocimiento los frijoles defectivos HH18 absorbieron poco agua mientras que el control suave y algunos duros HH6 continuaron hidratándose. Después de 2 horas los frijoles HH18 tuvieron menos absorción de agua con una  $p < 0.05$ . La absorción de agua en este tiempo fue correlacionada negativamente con la textura de cocimiento ( $r = -0.97$ ,  $p < 0.05$ ) (Hinks et al. 1987).

La pérdida de sólidos durante el remojo fue correlacionada positivamente a la textura de cocimiento final ( $r = 0.995$ ,  $p < 0.01$ ) a sí como la absorción de agua ( $r = 0.982$ ,

$p < 0.05$ ). Estos dos factores, la pérdida de sólidos elevada así como la elevada absorción de agua puede ser explicada por el proceso de envejecimiento de las semillas en reposo (Hinks et al. 1987). Varios autores indican que el envejecimiento involucra pérdida de la integridad de la membrana conduciendo a una permeabilidad elevada y en una pérdida de azúcares, aminoácidos y sales inorgánicas (Harman y Granett 1972, Bewlery y Black, 1985 citados por Hinks et al. 1987). Esta alteración de las membranas puede también permitir una mayor hidratación descontrolada y una subsecuente mayor absorción de agua en las semillas que son mayormente afectados (fracturas, temperatura y humedad alta por más tiempo).

La pérdida de sólidos indican que las semillas más frescas son más susceptibles de liberación de solutos durante el remojo y que la restricción a esta pérdida de solutos debido a alta temperatura y humedad es importante en relación o comparado con pérdidas de almacenamiento cortos (Hinks et al. 1987).

En el endurecimiento hay varias etapas involucradas, 2 mecanismos la pérdida de fitatos como un mecanismo menor que se da durante el almacenaje inicial y la deposición de lignina como un mecanismo principal durante el tiempo de almacenamiento posteriores (Hincks y Stanley 1986 citado por Hinks et al. 1987).

Los tiempos de cocimiento de frijol fresco varían de 17-37 minutos y para frijol viejo de 24-63 minutos. El frijol almacenado por 1 año a temperatura ambiente tuvo un tiempo medio de cocimiento de 45 minutos con un rango desde 17 a 82 minutos (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Las diferencias en tiempos de cocimiento entre muestras viejas y frescas persistieron a pesar del contenido de humedad del frijol (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Wassimi et al. (1988) encontraron *significante* variación genética de retención de proteína después del cocimiento.

La influencia de carbohidratos es la habilidad del cocinado de las semillas de la legumbre parece ser centrado en tres fracciones: los gránulos de almidón, los polisacáridos de la lámina media de la pared de las células y componentes de la fibra dietética (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

El almidón es un polímero de glucosa usualmente almacenado como pequeños gránulos microscópicos en las semillas (Sathe et al. 1985).

El almidón contiene dos polímeros de glucosa: amilosa cadena lineal con enlaces  $\alpha$ 1-4 y amilopectina cadena ramificada con enlaces  $\alpha$ 1-6.

Hentges et al. (1991) sugieren que los cambios en las sustancias pécticas que ocurren durante el almacenamiento son responsables de los cambios en las propiedades de cocinado de los frijoles comunes.

El cocinado resulta en un ligero decremento de la fibra de dieta soluble y un marcado incrementado en la fibra dietética insoluble (Hughes y Suaso, 1989). Las bases químicas e los cambios en el contenido de fibra dietética del alimento durante el cocinado permanece sin aclarar (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

La fracción de amilosa del almidón es primeramente responsable de su comportamiento fisicoquímico en el sistema agua-almidón (Greenwood, 1979).

El rango de temperatura de gelatinización está afectado por la fuente e historia del almidón. Los factores que están influyendo esta propiedades pueden ser: tamaño y forma de los gránulos de almidón, la presencia o ausencia de lípidos y proteínas, la carga iónica del almidón, la clase y grado de cristalización dentro de los gránulos y tal vez el tamaño molecular y grado de gelatinización de la fracción del almidón (Schoch y Maywald, 1968).

Bretzlöff (1968) sugiere que la solubilidad y difusión del almidón en células durante el cocinado puede incrementarse en los tejidos de la planta por adhesión intercelular.

Presumiblemente, la contribución de los compuestos del almidón al cocimiento de las semillas de legumbres dependerá de las características de imbibición y solubilidad (Lai y Varriano Marston, 1979). Esto es interesante para determinar si alterando el contenido de amilasa del almidón del frijol, se alteran las propiedades fisicoquímicas, relacionando el tiempo de cocción (Desphande y Damodaran, 1990).

Bressani et al. (1982, 1983) estudiaron la partición de los polifenoles en frijoles durante el cocinado, encontrando que cerca del 60, 67 y 37% del total de polifenoles de frijoles crudos permanecen en los frijoles de color negro, blanco y rojo, respectivamente después del cocinado. El agua del cocinado contiene menos del 20% del total de polifenoles. Bressani et al. (1982) hipotetizan que parte de los compuestos fenólicos

permanecen libres y parte se encuentran ligados a otros compuestos orgánicos y proteínas durante el cocinado. El ligado de los polifenoles puede hacer que las proteínas sean menos susceptibles a la hidrólisis enzimática en el tracto digestivo incrementando la producción de nitrógeno fecal y su decremento en la digestibilidad de la proteína.

Bonilla et al. (1991) en su investigación sobre el efecto del cocinado tradicional y factores antinutricionales en frijoles negros (*Phaseolus vulgaris*) cultivados en Costa Rica, en donde estimaron los inhibidores de tripsina,  $\alpha$ amilasa y hemaglutininas antes y después de su cocimiento en agua. Concluyeron que los inhibidores de  $\alpha$ amilasa fueron los más resistentes al tratamiento con calor con 33% de actividad inicial después de 30 minutos de cocinado. Cerca del 80% de la actividad antitripsica fue destruida después de 9 minutos de cocinado. Después de 10 minutos de cocinado solamente 1% de la actividad hemaglutinante estuvo presente.

Jones y Boulter (1983) en su investigación causa de la reducida tasa de cocimiento en frijol, después de condiciones adversas de almacenamiento, concluyen que la calidad de la textura se reduce por la evaporación de las células del cotiledón durante el cocimiento. El valor de imbibición no fue debido a la impermeabilidad de la testa ni al cambio en la fuerza de hinchamiento de los granos de almidón. La causa se debió a la filtración de solutos de los cotiledones durante la absorción la cual fue casi 10 veces mayor en frijol duro (195 ppm/g) que en frijol suave (21 ppm/g). Se encontró un coeficiente de correlación de  $-0.99$  entre el valor de imbibición y de filtración. Por lo tanto el incremento en contenido de humedad debida a alta humedad relativa durante el almacenamiento, es uno de los factores clave para el endurecimiento. Esto conduce a un metabolismo restringido que rompe la membrana y reduce la filtración y valor de imbibición y también da acceso a cationes bivalentes desde la fitina hidrolizada a la pectina.

Castellanos et al. (1995) en su trabajo efectos del carácter cubierta dura en el tiempo de cocinado de frijoles comunes cultivados en tierra altas semiáridas de México; concluyen que la testa dura es un problema principal de los frijoles producidos en tierras altas semiáridas de México. Contribuye significativamente a los tiempos de cocción más largos de los frijoles recién cosechados de esa región. También mencionan que el contenido de humedad inicial de la semilla debería ser de 90 g/Kg semilla o menos y las mediciones

de la absorción de agua debe ser tomada después del remojo de las semillas (en agua) por 18 horas. Si esas recomendaciones se siguieron aquellos genotipos con valores de absorción de agua menores a 80% (w/w) debieron ser descartados.

Castellanos et al.(1995) mencionan una correlación negativa entre el tiempo de cocción y absorción de agua. Encontraron que después de un remojo de 18 horas, los frijoles recién cosechados con 80-110% de absorción de agua exhibieron tiempos de cocción entre 50 y 90 minutos, mientras que en los frijoles con menos del 30% de absorción de agua se cocinaron en 130-170 minutos. Ellos concluyen que el problema de testa dura es el principal factor en retardar el tiempo de cocción de los frijoles recién cosechados cultivados en regiones semiáridas de México.

Durante la cocción completa de los frijoles, el estrés mecánico impartido durante la gelatinización del almidón desnaturalizado de la proteína y por calor pueden facilitar la separación de las células y el desarrollo de uniforme textura lisa en el completo cocinado de frijol (Desphande y Damodaran, 1990).

Los frijoles comunes resisten ampliamente el cocinado debido principalmente a 2 causas: testa dura, indicando que la cubierta de la semilla es impermeable al agua y el defecto de alto tiempo de cocción, implica que los cotiledones no se suavizan durante la hervida, aunque las semillas absorban agua. La cubierta dura es promovida por la baja humedad y puede ser revertida por tratamiento hidrotérmico, escarificación o descorticado. El alto tiempo de cocción es irreversible y acelerada por alta humedad y alta temperatura (Vindiola et al. 1986).

Otras investigaciones (Cárabez-Trejo et al. 1991) han demostrado la contribución de la cubierta de la semilla en el desarrollo del fenómeno de alto tiempo de cocción.

Rodríguez y Mendoza (1990), estudiaron las bases fisicoquímicas de las semillas menos duras en frijol muny y encontraron que las suaves y cubierta de semillas duras fueron 2 veces de las semillas normales. Las semillas duras y normales tienen similar composición química proximal excepto en el contenido de fibra, el cual fue 9 a 25% más alto en ejemplares duros. La cubierta de las semillas duras tiene 12% más alto contenido de fibra, 7 veces más lignina y 23% más alto sílica que los ejemplares normales. Análisis

histoquímico y microscopía electrónica de barrido revelan una más rígida y alta estructura de la capa de empalizada en las semillas duras comparadas con las normales.

Los frijoles comunes son usualmente preparados para alimento por lavado en agua o soluciones salinas a temperatura ambiente por 16 a 24 horas y cocinados en agua fresca, con o sin sal u otros condimentos, a temperatura y presión atmosférica o por "retorting".

Los frijoles son cocinados por 1 hora o más dependiendo de la variedad, edad, tiempo de almacenaje y otros factores dependientes de la calidad (Rockland y Jones, 1974).

El tamaño y forma de los frijoles, área superficial, grosor de las semillas, velocidad de gelatinización del almidón y la naturaleza y contenido constituyentes no almidonosos que actúan como una barrera física en la hidratación de los gránulos de almidón puede influir la velocidad de la imbibición de agua durante el cocinado de los frijoles secos (Desphande y Cheryan, 1986).

Muller (1967) reporta que el grosor de la capa de empalizada, contenido de lignina y células de la cubierta de las semillas y posiblemente de las paredes de las células de los cotiledones son determinantes de las cualidades de cocción.

Furthermore (citado por Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993) encontró una relación entre las cualidades de cocinado y ácido fítico,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  y pectina libre.

Youseff et al. (1982), determinaron la relación entre la cocción y algunas propiedades químicas y físicas de 20 ejemplares de *Vicia fava* cultivados en Egipto y Canadá. Análisis estadístico demuestran una significativa correlación alta entre el índice de cocción y coeficiente de hidratación y el % de cubierta de la semilla de los ejemplares de Egipto (alto contenido de la cubierta de la semilla; de los ejemplares de Canadá (bajo contenido de cubiertas de la semilla), una correlación significativamente alta fue obtenida entre el índice de cocción y peso de 100 semillas, viscosidad, amilográfica máxima y descenso del número de harina del cotiledón. El estudio demostró que el fenómeno de alto tiempo de cocción fue controlado por ambas características (cubierta de la semilla y cotiledón) y no sólo al problema de testa dura.

Bhatty (1984), relaciona las cualidades de cocción (shear force) de 10 ejemplares de 3 cultivos de crecimiento lento durante 1980 y 1981, en semillas menos duras y contenido de proteína,  $\text{Ca}^{-2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ ,  $\text{Na}^{+}+\text{K}^{+}/\text{P}$  y  $\text{Ca}^{+2}+\text{Mg}^{+2}/\text{P}$ .

La principal correlación significativamente obtenida fue entre cualidades de cocción y  $\text{Ca}^{+2}$   $\text{Mg}^{+2}/\text{P}$ , sugiriendo algún papel de esos elementos minerales en las cualidades de cocción lenta. La buena cocción lenta fue altamente significativa con el coeficiente de hidratación (imbibición) que los ejemplares de pobre cocción.

La inactivación completa de la hemaglutinina purificada por calentamiento a  $90^{\circ}\text{C}$  por 5 minutos soporta la idea que las lectinas pueden ser inactivadas a través del proceso de calor (Manzini-Filho et al. 1979).

La cocción y la textura del producto cocinado son influenciados por numerosos factores, incluyendo la variedad (Hosfield y Uebersax, 1980), localización de crecimiento (Paredes López et al. 1989), contenido de humedad en el frijol almacenado (Antúnez y Sgarbieri, 1979), composición química (Jones y Boulter, 1983) y pretratamiento por lavado en agua o solución salina (Iyer et al. 1980). Esos factores pueden afectar la cocción en el frijol porque alteran las relaciones físicas y químicas de los constituyentes celulares e intercelulares (cambios en morfología, contenido de minerales, proteínas y compuestos fosforados y actividad enzimática), lo cual puede influir en la velocidad de hidratación, rompimiento de las cadenas de hidrógeno y otros fenómenos asociados con el proceso de cocción (Kabbara et al. 1987).

Voisey y Larmond (1971) compararon el tiempo de cocción de 3 cultivares de frijol navy en una localidad bajo idénticas condiciones, encontrando diferencias entre los cultivares.

Otros investigadores (Hosfield y Uebersax, 1980) reportan diferencias entre el tiempo de cocción en algunas variedades de frijol común.

Algunos autores reportan que el lugar de crecimiento influye en la cocción más que el cultivar (Quenzer et al. 1978).

La humedad y el contenido de fitatos de los frijoles han sido relacionados con la cocción. Frijoles almacenados con alto contenido de humedad requieren más largo tiempo de cocción que los frijoles almacenados con bajo contenido de humedad (Antúnez y Sgarbieri, 1979). Algunos trabajos suponen la relación entre el contenido de fitatos y la cocción (Jones y Boulter, 1983).

Los consumidores coinciden con la conveniencia en la preparación descartando los frijoles que tienen prolongados tiempos de cocción. Los procesos demandan buena habilidad de cocción porque esto es esencial para el procesado eficiente de los productos del frijol (Uebersax y Bedford, 1980).

La cocción es una característica principal de calidad de los frijoles comunes comestibles (Proctor y Watts, 1987).

El cocinado generalmente inactiva factores sensibles al calor tales como la tripsina y quimiotripsina, compuestos volátiles tales como el HCN y compuestos volátiles de sabor. Los factores estables al calor lisino-alanina y alérgenos no pueden ser reducidos significativamente durante el proceso de calor (Desphande et al. 1985).

Cerca del 30 al 40% de la reducción en polifenoles son observados cuando se cuecen los frijoles rojos, negros y blancos (Bressani y Elias, 1980).

Las lectinas del frijol común pueden ser completamente inactivadas por la aplicación de calor (Liener, 1979).

La cocción puede ser realizada a presión atmosférica y temperatura o a alta presión (autoclave). El principal propósito de la cocción es el desarrollo del aroma y de proporcionar frijoles tiernos. El agua de la cocción puede o no ser descartada, dependiendo de la cultura o preferencias personales. Generalmente el lavado precede al cocinado; la cocción de los frijoles puede producir algunos cambios en las cualidades físicas, bioquímicas y nutricionales. Además tiempos de cocción prolongados pueden reducir las cualidades nutritivas del frijol (Bressani et al. 1963).

Los frijoles comunes son un alimento popular en algunos países en desarrollo. El frijol común tiene una serie de inconvenientes: el largo tiempo requerido para ser cocinado (en el caso de familias de bajos recursos tiempos prolongados de cocinado repercuten en la economía, porque hay un gasto sustancial en combustible requerido). Las cualidades del cocinado como el tiempo requerido de cocción de los frijoles para alcanzar la textura que es considerada como aceptable para el consumidor (Bresanni, 1989).

#### **Efecto del cocimiento sobre la textura**

Por su parte Rockland y Dones (1974), trabajaron sobre los efectos de cocimiento sobre la estructura celular de cotiledones en frijoles lima grandes rehidratados, encontrando

que en los frijoles crudos remojados los cotiledones normalmente rompieron las paredes de las células exponiendo el contenido celular. En cambio los frijoles cocidos se separaron fácilmente sin romper sus paredes, concluyendo que la diferencia en las propiedades de cotiledones crudos y cocidos respecto al rompimiento de pared celular puede deberse al efecto de plasticidad del agua hirviendo sobre las lamelas medias lo cual libera el estrés impuesto sobre la pared durante la fractura mecánica de los cotiledones cocidos. También en 1978 Sefa-Dedeh et al. estudiaron los efectos del tiempo de remojo y condiciones sobre la textura y microestructura de guisantes *Vigna unguicualta*. En sus resultados mencionan que los guisantes remojados previamente al cocimiento redujeron la dureza proporcionalmente al tiempo de remojo. Por otro lado citan que la firmeza fue disminuyendo cuando los guisantes se calentaron a 100°C. por 90 minutos, atribuyendo esto al rompimiento de las lamelas medias como lo evidenciaron con el microscopio electrónico de barrido. Ellos subrayan que la tasa de suavizamiento a 100°C. sugirió una reacción cinética de 1er. orden y es posible que la constante (K1) de la reacción obtenida pueda ser usada como un índice de propiedad textural.

Otro aspecto referente a los efectos del cocimiento experimental sobre la producción y la composición aproximada de tres leguminosas seleccionadas, fue investigado por Khalil et al. (1986) encontrando que el desollejamiento aumentó el contenido de proteínas, grasas y energía, pero disminuyó el contenido de ceniza y fibra, así como el tiempo de cocimiento. Reportan que en el cocimiento la relación real de los nutrientes fue buena.

Por su parte Bernal-Lugo (1987), en su investigación relacionada con el endurecimiento del frijol: causas y naturaleza del fenómeno, reporta probables sucesos moleculares ocasionados al proceso de cocción, menciona que durante el proceso de cocción el grano de frijol, hidratado por el remojo previo, se suaviza. Este cambio en la textura del grano lo atribuye a consecuencia de la solubilización de la lamela media, lo cual permite la separación de las células adyacentes del cotiledón (Sefa-Dede y Stanley, 1979). La solubilidad del material intercelular que forma la lamela media depende de la cantidad de calcio y magnesio que interaccionan con las sustancias pécticas (Goodwing y Mercer, 1983). Indica que una posibilidad es que durante la cocción del grano la pared celular sufra cambios estructurales que permitan disminuir la fuerza de interacción pectato-ión divalente, con esto cambia la solubilidad de los componentes de la lamela media. Otra posibilidad es la variación

en la solubilidad, también se daría si los cationes sin ser quelados por el ácido fítico y/o las proteínas de reserva, ya sea porque los cationes se movilizan al interior del protoplasto o porque los quelantes (ácido fítico y proteínas) se movilizaron hacia el exterior y al pasar por la pared celular interaccionan con los iones divalentes y los arrastran consigo y aumenta de esta manera la solubilidad de la pectina. A la fecha se desconoce cual de estas posibilidades o ambas, participan en disminuir el contenido de iones divalentes de la pared celular durante la cocción del grano. Se ha demostrado que cuando el frijol se remoja a 60°C. por 12 horas el 33% del ácido fítico se hidroliza por acción de la fitasa y el resto difunde el agua de remojo. Esto sugiere que durante el proceso de cocción y por efecto del calor, las proteínas de reserva se desnaturalizan y liberan el ácido fítico de su asociación, la membrana del cuerpo protéico se rompe, lo que permite que el ácido fítico se movilice al medio de cocción y arrastra muy posiblemente consigo a los iones bivalentes, lo que permite la solubilización de la lamela media.

Se ha determinado en frijoles cocidos que el contenido de pectinas  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  presentes en la pared celular es menor que en el frijol crudo (Moscoso et al. 1984), otros cambios estructurales observados durante la cocción del grano de frijol incluyen la gelatinización de los gránulos de almidón (Hohlberg y Stanley, 1987). De lo anterior concluye que cualquier factor que modifique cualitativa o cuantitativamente los componentes de la pared celular y/o los quelantes citoplasmáticos afectan en forma importante el proceso de cocción.

#### **Efectos del tiempo de almacenamiento sobre el cocimiento y textura**

Sefa-Debeh et al. (1979), realizaron otro trabajo sobre los efectos del tiempo de almacenamiento y defectos en las condiciones de cocimiento-dureza en frijol (*Vigna unguicualta*) citando que el almacenaje bajo condiciones desfavorables es conocido que afecta adversamente las cualidades de cocimiento de legumbres para el defecto de cocimiento-dureza. El almacenamiento fue a 90°C, 80% RH; 21°C 35% HR y 29°C, 85% HR por 12 meses. El microscopio electrónico de barrido no reveló cambio en frijol crudo después de 12 meses, pero remojados en agua producen una pérdida de algunos cuerpos de proteínas en semillas almacenadas a 29°C. La medición de textura indica que el valor del cocimiento de los

frijoles decrece con el incremento de almacenaje, temperatura y ese almacenaje a 29°C presenta la formación del defecto dureza-cocimiento. La microestructura del defecto de los frijoles demostró una incompleta ruptura de la lámina media, la cual puede parcialmente explicar el defecto. Por su parte Varriano-Marston y Jackson (1981), investigaron la dificultad de cocimiento en frijoles: cambios estructurales durante la imbibición y almacenamiento, reportando que los cambios ultraestructurales en frijoles negros almacenados a cortos periodos de tiempo a alta temperatura y humedad incluyen la desintegración de organelos e inclusiones citoplasmáticas y el debilitamiento entre la pared celular y el plasmalema. Cita también que una serie compleja de cambios bioquímicos ocurre al efectuarse estas alteraciones de estructura, asumiendo que numerosas enzimas están involucradas, fosfatasa, peroxidasa y proteasas. Entre otros resultados mencionan los cambios citoplasmáticos durante el almacenamiento afectando la capacidad de cocimiento del frijol, alterando el enlace intercelular. La lamela media consiste de sales insolubles de pectatos y componentes protéicos (Letham, 1962). Indican que con el tiempo dicha lamela se lignifica (Esau, 1977). Durante la autólisis de los organelos citoplasmáticos, la lignina es secretada en la lamela media bajo la influencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y peroxidasa. Esta lignificación en legumbres almacenadas explica su baja capacidad de cocimiento. Concluyen que aunque las alteraciones estructurales observadas no afectan el modo de absorción de agua por los frijoles, si explican la gran pérdida de electrolitos de frijol almacenado durante el remojo. Por otro lado la pérdida del plasmalema en frijoles almacenados indica la destrucción posterior de estructuras de membrana.

El mismo autor relaciona el almacenamiento del grano de frijol y su relación con el endurecimiento, mencionando que los factores que se han relacionado con el endurecimiento del frijol durante el almacenamiento son: humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento (Burr et al. 1968). El frijol con un contenido de humedad entre 13 y 18 %, requiere de tiempos mayores a 6 meses para endurecimiento, siempre y cuando la temperatura de almacenamiento sea menor de 30°C (Burr et al. 1968), pero si se almacena a 4°C no se endurece ni en 2 años (Esquivel, 1984), expuesto a 100% de humedad relativa y a 14°C. solo requiere de 14 días de almacenamiento para aumentar su tiempo de cocción (Jackson y Varriano-Marston 1981). La velocidad del incremento en el grado de endurecimiento se debe principalmente a las condiciones de temperatura y humedad bajo las cuales se almacena el grano. Las regiones

donde se producen, almacenan y consumen frijol son por lo general de clima tropical, donde la humedad relativa promedio es de 85% y la temperatura de 30°C. Semitropical con 65% de humedad relativa en el ambiente y 24°C., y en las zonas templadas con humedad relativa de 35% y temperatura entre 15 y 20°C. Cuando se almacenó frijol en el laboratorio en condiciones similares a las anteriores se encontró que en alta humedad relativa y temperatura (clima tropical), el frijol inicia su proceso de deterioro a los 3 meses de estar almacenado, el tiempo de cocción del frijol almacenado por un año bajo estas condiciones fue de 3 veces más que en el control en las otras dos condiciones, los períodos de almacenamiento hasta de un año no causan deterioro en el frijol (Hohlberg y Stanley, 1987). El autor en estudios realizados sobre almacenamiento en la composición del grano de frijol, menciona que se han cuantificado principalmente los niveles de los compuestos que se modifican o participan en el proceso de cocción. En granos remojados por 10 a 18 horas a temperatura ambiente, se ha reportado que el contenido de ácido fítico y el grado de metilación de las pectinas es menor en frijol endurecido que en frijol control. Los contenidos de  $\text{Ca}^{2+}$  en la pared celular son mayores en frijol endurecido que en el control mientras que los niveles de sustancias pécticas totales son similares en ambos casos, pero el frijol endurecido tiene un mayor contenido de pectinas insolubles en oxalato de amonio. Los resultados antes mencionados fueron obtenidos en frijol almacenado por 6 meses en 70% y 34°C (Jones y Boutler, 1983). Sin embargo, cuando determinaron estos compuestos en granos cuyo grado de dureza es menor de 2 (cociente de dividir el tiempo de cocción del frijol a cualquier tiempo de almacenamiento entre el tiempo de cocción inicial y el frijol no se remoja antes de las determinaciones, el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en pared celular, el grado de metilación de las pectinas y la cantidad de las mismas es similar en ambos casos (Bernal-Lugo y Baeza, 2001). Los resultados antes mencionados y aparentemente contradictorios podrían deberse a que los granos utilizados en ambos casos, presentaban diversos grados de dureza o bien que durante el almacenamiento se introducen cambios estructurales y de composición en el grano de frijol que solo se manifiestan durante el período de remojo. Estos resultados sugieren que la disminución en el grado de metilación de las pectinas se presenta en el frijol cuyo grado de dureza es mayor de 3, sin embargo, el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en la pared celular del grano seco no se modifica.

Por su parte Jones y Boutler (1983), estudiaron la causa de la tasa reducida de cocimiento en (*Phaseolus vulgaris*) después del almacenamiento en condiciones adversas. Ellos investigaron la interrelación entre la tasa de separación celular, valor de imbibición y solubilidad de pectinas reducidas, encontrando que el valor de imbibición y la solubilidad de pectinas disminuidas, pueden ambos causar una reducción en la tasa de separación celular durante el cocimiento de frijoles y por lo tanto un aumento en su tiempo de cocimiento y que esos dos factores actúen sinérgicamente. Otros síntomas que mencionan paralelos son el flujo de solutos durante el remojo debido al rompimiento de membranas, catabolismo de fitinas y demetilación de pectinas, todos los cuales son factores en el desarrollo del frijol duro. Por otro lado Moscoso et al. (1984), hicieron una relación del fenómeno: duro-de cocimiento en las judías, alubias rojas y la absorción de agua, fuerza de punción, pectina, ácido fítico y minerales. Estos fueron evaluados por un período de almacenamiento de granos y el efecto de temperatura alta y humedad alta. La tasa de ablandamiento del frijol durante el cocimiento y la tasa de disolución de la pectina durante el cocimiento siguieron cinéticas aparentes de primer orden y las constantes de sus tasas aparentes estuvieron muy correlacionadas una con otra. Ellos citan que las constantes de la tasa de ablandamiento aparente disminuyeron según se incrementaba el tiempo de almacenaje. La pérdida de capacidad de cocimiento en semillas maduras almacenadas en condiciones de alta humedad-alta temperatura, probablemente se debe a la disminución en el fósforo del ácido fítico y alteraciones en el radio de cationes mono y divalentes en el tejido.

#### **Efecto de la composición química en el endurecimiento y la cocción**

Bernal-Lugo (1987), indica sobre la composición química que participa en la cocción y en el endurecimiento del frijol, en donde el citoplasma de las células del cotiledón contienen granos elípticos de almidón, embebidos en una matriz que consiste de cuerpos protéicos o granos de aleuronas. Los cuerpos protéicos poseen inclusiones cristalinas o globoides las cuales son ricas en ácido fítico. Las proteínas de reserva también se encuentran localizadas en el interior de estos organelos.

El ácido fítico o hexafosfato de mioinositol, es la forma en que las semillas de las leguminosas almacenan fosfatos inorgánicos. Los contenidos de ácido fítico en el grano de

frijol varían de 0.2 a 2.5 % con base en peso seco. La estructura polar de esta molécula le proporciona un fuerte potencial quelante por lo que interacciona con cationes mono y divalentes que incluyen a ciertos minerales esenciales de la dieta como el  $Zn^{2+}$ , al que hace biológicamente inaccesible para su absorción. En el grano de frijol el 75% del ácido fítico se encuentra soluble en forma quizá de un complejo proteína-ion divalente-fitina. El resto se encuentra en forma insoluble depositado en globoides cristalinos del cuerpo protéico.

La pared celular es la estructura que rodea el protoplasto y consiste de microfibrillas de celulosa, hemicelulosa y lignina. Las paredes celulares de dos células contiguas están unidas por la lámina media formada principalmente por sustancias pécticas. Este cemento intercelular es una mezcla de polisacáridos constituidos por proteínas, polímeros de ácido glucurónico esterificado parcialmente con el grupo metilo, los grupos carboxilo libres interacciones con iones inorgánicos, para formar pectatos. La pared celular también contiene de 5 a 10% de compuestos polifenólicos en forma de complejos polisacáridos-proteína-polifenol. además de ciertos polisacáridos neutros.

La textura que el grano seco posee se debe principalmente a la estructura y composición de la testa y de la lámina media. La testa de la semilla del frijol, al igual que la de otras leguminosas es rica en taninos y ligninas, recientemente estos componentes también han sido implicados en el endurecimiento del frijol.

Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua de peso molecular entre 500 y 3000 daltones y que poseen la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Los dos componentes monoméricos más abundantes son los compuestos isoméricos, catequina y epicatequina, los cuales se condensan para formar polímeros hexaméricos y heptaméricos.

La lignina es un polímero tipo malla compuesto de alcoholes aromáticos substituídos. La estructura tridimensional consiste de cadenas lineales entrecruzadas por una variedad de enlaces covalentes intercadena. Es un compuesto no cargado insoluble y ampliamente distribuido en tejidos vegetales donde se encuentra unido en forma covalente a los componentes de la hemicelulosa de la pared celular y de la lamela media.

La función de la lignina es disminuir la permeabilidad del agua a través de la pared celular, impartir rigidez y unir células que crean una estructura resistente al impacto, compresión y deformación.

Kon (1968), en su trabajo sobre sustancias pécticas de frijoles secos y su posible correlación con el tiempo de cocimiento, reporta que hay un aumento notorio en el tiempo de cocimiento para los frijoles de alta humedad que se almacenaron por 4 años. La diferencia entre nitrógeno, fósforo y calcio es poca. En las sustancias pécticas totales extraídas de los frijoles de alta y baja humedad no es significativa. El método de fraccionación usado en estos experimentos lo diseñaron para separar las sustancias pécticas en tres fracciones: la fracción hidrosoluble compuesta metoxy-pectina; la fracción soluble en EDTA 1% de pH 6.0 compuesta de sales de Mg y Ca y la fracción soluble en NaOH 0.5 N compuesta de protopectina. Sobre esto no encontraron diferencias significativas en las fracciones pécticas extraídas a baja y alta humedad. Ellos indican que los valores altos obtenidos de sustancias pécticas totales extraídas con alfa amilasa pueden atribuirse al efecto del calor y del EDTA sobre los enlaces entre grupos carboxilo de proteínas y pectinas. Otro dato que aporta es que recientemente se han publicado datos experimentales que sugieren que la lignificación (interacción de polifenoles y proteínas), podrían estar involucradas en el fenómeno de endurecimiento. El contenido libre de taninos de frijol disminuye con el tiempo de almacenamiento mientras que los asociados a proteínas aumentan. Este comportamiento es más pronunciado en frijol negro y rojo y se correlaciona en forma negativa con el tiempo de cocción (González 1982; Sievwri y Shi 1968). Las posibles causas bioquímicas involucradas en el fenómeno del endurecimiento del frijol son inducidas cuando el grano es almacenado en humedades relativas altas (HR>60%) y temperaturas medias (T>20°C.) en estas condiciones los contenidos de agua del grano varían del 8% al 20% según de la HR y T en el almacén. La actividad del agua en estos granos a 25°C. es mayor de 0.8 (Labuza 1980). Esta actividad del agua permite la acción de diversas enzimas. Entre las enzimas que podrían activarse durante el almacenamiento del frijol están la fitasa que hidroliza el fitato a inosítidos y fósforo inorgánico que pierde así su capacidad para quitar iones divalentes; la pectina esterasa que remueve los grupos metilo de las pectinas y expone a los grupos carboxilo y con esto aumenta los sitios y/o la fuerza de interacción de las pectinas con los iones divalentes, las lipo

oxigenasas que modifican los lípidos y producen la degradación de membranas e incrementan de esta forma la interacción enzima-substrato. Las proteasas que podrían hidrolizar a las proteínas de reserva y producir péptidos de peso molecular quizás con propiedades más reactivas. Y las peroxidadas y enzimas asociadas que producirían el entrecruzamiento de los polifenoles a las proteínas de la pared celular que originan la lignificación y/o cambios estructurales en la pared celular.

Por otra parte Hincks et al. (1987), determinaron la absorción de agua, pérdida de sólidos y pérdida de electrolitos en frijoles negros suaves y duros durante el remojo y cocimiento. Los tres parámetros aumentaron en los frijoles duros durante el remojo. Los autores hipotizaron que el daño de la membrana es el que causa esta diferencia. Durante el cocimiento, los frijoles duros perdieron menos sólidos y minerales y no continuaron hidratándose al mismo grado que los controles, probablemente como resultado de una separación celular restringida. Citan que la evidencia microscópica indicó una gelatinización de almidón reducida en frijoles duros. Esto se atribuye a la reducida absorción de agua. Por otro lado, Hohlberg y Stanley (1987) investigaron la dificultad de cocimiento en frijoles negros. Consideraciones acerca de proteínas y almidones. Esto lo llevaron a cabo almacenando frijoles negros (*Phaseolus vulgaris*) por 10 meses bajo tres condiciones ambientales (Temp./humedad alta (CHTMH: 30°C, 85% RH); Temp./humedad media (MTMH: 25°C, 65% RH); Temp. Humedad baja. (LTLH: 15°C, 35 % RH), para determinar cambios en proteínas y almidón y precisar su contribución en defectos texturales. Los autores encontraron que la dificultad de cocimiento se presentó en semillas de alta temperatura/humedad. Un aumento en el pico de DSC (calorimetría de barrido diferencial) de la temperatura de gelatinización del almidón durante el almacenamiento de las tres condiciones no fue relacionada al endurecimiento. Cinco fracciones de proteínas fueron separadas por filtración de gel. Un aumento significativo ( $P \leq 0.5$ ) fue encontrado durante el almacenamiento en extractos MTMH y una fracción de HTHH. Después de 10 meses los aminoácidos cromáticos libres aumentaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) con el incremento de temperatura y humedad. La coincidencia de la aparición de pequeños polipéptidos y aminoácidos aromáticos con el desarrollo de la dificultad de cocimiento, sugiere una relación entre esos fenómenos.

Otros efectos del precocimiento de leguminosas son tratados por Gujska y Khan (1991), los cuales estudiaron los efectos de extrusión por alta temperatura sobre la solubilidad y distribución de proteínas en frijoles pinto y navy. Esto lo realizaron con la fraccionación de proteínas y las electroforesis gel poliacrilamida (PAGE) mostraron cambios en la distribución de proteínas durante la extrusión a alta temperatura de la fracción alta de almidón de frijoles pinto y navy (HSF). Encontraron un alto grado de insolubilidad de proteínas después de la extrusión, el cual redujo la solubilidad de la albúmina y globulina y produjo un aumento en el residuo. Una temperatura de extrusión de 110°C. tuvo un efecto mayor, sobre la solubilidad de la albúmina y globulina en el frijol pinto que en el navy. El dodecil sulfato de sodio (SDS)-PAGE mostro mayores cambios en los patrones de subunidad de albúmina y globulina de frijol pinto que en navy a 110°C. Temperaturas mayores de 135 y 150°C. causaron mayores cambios en patrones electroforéticos del gel de fracciones albúmina y globulina de los frijoles navy.

Ziena et al. (1991) investigaron la composición de aminoácidos y algunos factores antinutricionales de habas cocidas (Medammis): Efectos de tiempo y temperatura de cocimiento, encontrando que si todos los aminoácidos esenciales declinaron después del cocimiento. Menos del 10% de los taninos totales fueron descompuestos durante el cocimiento, y casi el 50% de ellos pasó al líquido de cocimiento. La retención de ácido fítico en frijoles cocidos fue significativamente más baja que en las mezclas de cocimiento. La pérdida del ácido fítico fue mayor en frijoles de fácil cocimiento que en los difíciles de cocer. La retención aparente de la actividad inhibitoria de la tripsina llegó a casi el 50%. Los tratamientos de calor óptimo fueron 125°C a 1 hr. para frijoles fáciles y 120°C. a 2 hrs para frijoles difíciles de cocimiento.

## GELATINIZACION DEL ALMIDON

En lo que se refiere a los almidones sin tratamiento pueden ser divididos en tres grupos: los menos digeribles la papa, ñame, chino, ginlego, lirios, abellas, *Lotus* y plátano; los medianamente digeribles, el camote, helechos arbóreos y leguminosas y los más digeribles como son el trigo, maíz y cebada.

La gelatinización de almidón durante el almacenamiento en las 3 condiciones: alta temperatura/alta humedad, 30°C/85HR; temperatura media/humedad media 25°C/65HR; baja temperatura/baja humedad, 15°C/35HR, no se relacionó con el crecimiento (Hohlberg y Stanley, 1987).

La pobre digestibilidad del almidón es usualmente mejorada por el cocimiento (Dreher et al. 1984).

Pihak et al. (1989), compararon el método gravimétrico tradicional y el volumétrico con el nuevo método de capacidad de retención de agua para medir la imbibición de agua por los cotiledones del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) con y sin defecto de cocinado. La capacidad de retención de agua fue más confiable en la medición del agua tomada por los cotiledones después que el método anterior la cantidad total tomada incluyendo de volumen existiendo entre la cubierta de la semilla y los cotiledones en frijoles de difícil cocción. El total del agua tomada fue medida por el método de absorción de agua fue más grande para los frijoles de difícil cocción. Usando el método de capacidad de retención de agua, sin embargo los frijoles de difícil cocción ligaron aproximadamente 25% menos agua durante el remojo que en los frijoles control. La capacidad de retención de agua también mostraron grandes diferencias debido a las condiciones de almacenaje. Con esto se concluye que la capacidad de retención de agua se debe a los cambios que ocurren en la pared de las células con el desarrollo que los defectos de cocción de frijoles duros.

Bonilla et al. (1991) mencionan que la cocción y factores antinutricionales, inhibidores de tripsina, alfa amilasa y hemaglutinantes fueron estimados en frijoles negros (*Phaseolus vulgaris*) cultivados en Costa Rica antes y después de su cocimiento en agua. Inhibidores de alfa amilasa fueron los más resistentes al tratamiento con calor con 33% de actividad inicial después de 30 minutos de cocinado. Cerca del 80% de la actividad antitripsica fue destruida después de 9 minutos de cocinado, después de 10 minutos de cocinado solamente el 11% de la actividad hemaglutinante fue detectada.

Narchand y Blanschard postularon tres procesos para la gelatinización del almidón basado en termodinámica de no equilibrio:

- 1.- La difusión del agua en los gránulos de almidón
- 2.- Una transición helix-coila que facilita la hidratación con un proceso de fundición.

### 3.- El hinchamiento como resultado de la desintegración cristalina (fundición).

Blanschard reportó que el intercambio total de agua entre un gránulo de almidón y el ambiente a temperatura ambiente ocurre en casi un segundo. Basado en esta observación y la dependencia de temperatura de gelatinización el proceso de difusión no es responsable de la gelatinización del almidón. La gelatinización puede ser descrita como un proceso semicorporativo. Cada gránulo de almidón tiene su propio grado de cristalinidad con sus características de energía únicas.

Paredes-López et al. (1991), en su investigación sobre la influencia del proceso de endurecimiento y el remojo del frijol sobre la calidad de cocción, utilizaron dos variedades de frijol común (*Phaseolus vulgaris*), sembrados en la misma localidad, cosechados y limpiados. Los procesos utilizados para el endurecimiento fueron remojo en buffer de acetato, pH 4.1 a 37°C por 5 horas; almacenados a 37°C, 100% de humedad relativa (RH) por 28 días; almacenado de 31 a 33°C con 76% de (HR) por 120 días; después de los tratamientos en las semillas endurecidas fueron evaluadas, su tiempo de cocción con un cocedor Mattson para frijoles, posteriormente se suavizaron en solución salina (1% NaCl, 0.75% de  $\text{NaHCO}_3$  y 0.75%  $\text{NaHCO}_3$ ) en lugar de agua sola. Los cambios estructurales de las células del cotiledón fresco endurecidas y suavizadas fueron observadas. Los resultados de estos estudios pueden ser usados para el desarrollo de un proceso tecnológico utilizando las propiedades de los frijoles endurecidos generados por sistemas ineficientes de almacenaje.

Bishnoi y Khetarpaul (1992), en su investigación sobre procesamiento doméstico y métodos de cocción para la digestibilidad del almidón in vitro de diferentes cultivares de *Pisum sativum*, encontraron una diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en la digestibilidad (in vitro) y contenido de azúcares reductores, no reductores y almidón en cuatro cultivares, así como en el chícharo. Varios procedimientos domésticos y métodos de cocción, incluyendo el manejo por 6, 12 y 18 horas remojando (12 horas) seguido del descascarado de la semilla y una presión de cocción de semillas sin remojo, remojadas y descascaradas, remojadas y germinadas en varios periodos 12, 24 y 48 horas provocaron un incremento significativo en la digestibilidad del almidón del chícharo. La presión de cocción resultó ser el método más efectivo seguido por el cocimiento ordinario, germinando, descascarando y remojando. El

cocinado puede gelatinizar el almidón y en la germinación puede movilizar el almidón, resultando así en una mejora de la digestibilidad del almidón por la amilasa pancreática.

Kingman y Englyst (1993), en su investigación sobre la influencia de los métodos de preparación sobre la digestibilidad del almidón en papa, menciona que para propósitos nutricionales el almidón puede dividirse en: un almidón de rápida digestión (RDS), almidón de lenta digestión (SDDS) y almidón no digerible (RS). Estas fracciones pueden ser determinadas in vitro por una nueva técnica analítica.

Takahashi et al. (1994), encontraron que el almidón tratado a alta presión fue fuertemente distinguible del almidón tratado a alta temperatura (75 a 100°C) al menos en lo que respecta al tratado con enzimas, aunque se observaron algunas deficiencias entre estos almidones con microscopía electrónica de barrido u por calorimetría diferencial.

Yadav y Khetarpaul (1994), estudiaron la fermentación nativa del frijol mungo (*Phaseolus mungo*) a 25, 30 y 35°C por 12 y 18 horas encontrando que hay una disminución en los niveles de ácido fítico y polifenoles ( $P < 0.05$ ). Las legumbres no fermentadas presentaron grandes cantidades de ácido fítico y polifenoles (1000 ppm/100 g y 998 ppm/100 g) y estos disminuyeron a la mitad en el producto fermentado a 35°C durante 18 h. La digestibilidad in vitro del almidón y la proteína aumentó significativamente ( $P \leq 0.05$ ) con el incremento de temperatura y el período de fermentación. Una correlación significativa ( $P \leq 0.01$ ) y negativa fue encontrada entre la digestibilidad in vitro y los antinutrientes con lo cual se refuerza más allá de los resultados.

Castellanos et al. (1995), desarrollaron un protocolo para muestrear germoplasma de frijol para el carácter testa dura, evaluación de la testa dura sobre el tiempo de cocción y la relación entre la testa dura y otras características de las semillas en genotipos de frijol cultivados en tierras semiáridas de México. Entre el 50 y 75% de la variación en el tiempo de cocción de frijoles recién cosechados es explicado por diferencias en el grado de absorción de agua después de remojar por 18 horas. El grosor de la cubierta de la testa de la semilla estuvo correlacionado negativamente con la absorción de agua y el incremento en el tiempo de cocción en dos de las tres poblaciones evaluadas.

## DIGESTIBILIDAD

Kon (1982 en Sievwright y Shipe 1968) cita que hay pequeños cambios en la digestibilidad de proteínas *in vitro* de frijol negro remojado en solución salina, lo cual afecta la solubilidad proteica.

Siewwright y Shipe (1986) en su trabajo sobre el efecto de las condiciones de almacenamiento y tratamientos químicos sobre la firmeza, digestibilidad de proteína *in vitro*, taninos condensados, ácido fítico y cationes divalentes de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*), encuentran que almacenando el frijol negro a 30 o 40°C y con 80% HR mostraron un incremento definido en firmeza y educción en la digestibilidad de proteína *in vitro*. Los cambios en estas propiedades fueron pequeños cuando se almacenaron a 50°C y 50% de HR. Los efectos adversos de las condiciones pobres de almacenamiento se eliminaron por el remojo del frijol en soluciones de sales, en vez de agua. Los cambios en firmeza y digestibilidad fueron acompañados por cambios en las concentraciones de taninos y fitatos. La digestibilidad de proteínas parece reducirse por interacciones entre las proteínas y taninos, en especial los taninos de alto peso molecular. La concentración de estos taninos es afectada por la actividad de la polifenol oxidasa. La firmeza aumentó y la digestibilidad disminuyó según se redujo el contenido de ácido fítico.

Bressani et al. (1991) evaluaron dos métodos para establecer el contenido de polifenoles en frijol crudo y cocinado y su efecto en la digestibilidad de la proteína. La evaluación de los compuestos fenólicos se realizaron en frijoles blancos, negros y rojos de semillas crudas y cocinadas, encontrándose que la variabilidad entre las tres alícuotas fueron diferentes para cada color del frijol, pero el promedio de las tres concentraciones de frijol de todos los colores fue el mismo. Esto fue evaluado con el método de Folin-Denis (FD). Con el método precipitación de proteína de Hargermany Butler (HB) la variabilidad y los valores promedio de las tres alícuotas fue similar para el frijol negro y rojo, pero no para el blanco. Fue una correlación significativa ( $r=0.72$ ,  $P\leq 0.05$ ) entre los dos métodos para todos los frijoles cuando la alícuota más larga de extractos fue usada. La variedad en contenido de polifenoles con frijoles de color fue por el método FD y HB en frijol seco cocinado con caldo fue 31.4 a 36.3 y 25.0 a 93.3 respectivamente y en frijoles sin caldo 39.8 a 51.5 y 33.3 a 95.7. El mayor fue para frijol rojo. La digestibilidad de la harina de frijol cocinado, seco y sin caldo fue de

73.2, 69.6 y 64.5 y 71.9, 71.9 y 68.8% para el frijol blanco, rojo y negro. Hubo una correlación negativa ( $r = -0.39$ ,  $P < 0.05$ ) entre el contenido de polifenoles en la dieta y digestibilidad *in vivo* de la proteína.

Bishnoi y Khetarpaul (1993) encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) del almidón (*in vitro*) y contenido de azúcares reductores, azúcares no reductores y almidón en 4 cultivares, así como también en el chícharo. Varios procesos domésticos y métodos de cocinado, incluyendo el remojo por 6, 12 y 18 horas, remojo (12 horas) seguido del descascarado y cocinado ordinariamente por presión de semillas sin remojar, remojados y semillas descascarado y remojados y germinándolos por varios periodos, 12, 24 y 48 horas, provocaron un incremento significativo en la digestibilidad del almidón del chícharo. El cocinado con presión fue el método más afectivo que el cocinado ordinario, germinación, descascarado y remojo. El cocinado puede gelatinizar el almidón y la germinación puede movilizar el almidón, resultando así en una mejora de la digestibilidad del almidón por la amilasa pancreática.

Yadav y Khetarpaul (1994) en su trabajo sobre la fermentación de legumbres nativas: efectos en algunos antinutrientes y digestibilidad *in vitro* del almidón y la proteína, concluye que el método tradicional indígena de la fermentación el wadi (comida indígena) es un potencial así como también un método de costo efectivo para reducir el contenido de ácido fítico y polifenoles y mejora la digestibilidad *in vitro* de almidón y la proteína de los cotiledones descascarados de los garbanzos.

Los factores que inhiben la digestibilidad y reducen las cualidades nutricionales de la proteína del frijol común incluyen la presencia de factores antinutricionales, la estructura de la proteína y el complejo proteína-almidón, hemicelulosa, minerales y otras proteínas (Bressanni 1975).

La digestibilidad de la proteína del frijol crudo generalmente está en un rango de 25 a 60%, pero cocinado tiene un rango de digestibilidad de 65 a 85% dependiendo de la variedad del frijol y el proceso de cocinado usado (Chang y Satterlee, 1982). La mejora después del cocinado es generalmente atribuido a la inactivación por el calor de inhibidores de proteinasa lábil y lectinas (Jaffé y Vega-Lette, 1968).

La inaccesibilidad de las enzimas de la proteína faseolina es atribuida a la construcción estructural de faseolina que tiene una estructura compacta. La estabilidad impartida se debe a la estructura tridimensional con sus carbohidratos (Pazur y Aronson, 1972).

Deshpande y Damodaron (1989) estudiaron la estructura en relación a la digestibilidad de la proteína en un modelo in vitro de faseolina y vicina las principales proteínas del frijol común y chícharo verde respectivamente.

Ellos proponen un posible papel de la estructura secundaria y cuaternaria en su digestibilidad.

En años recientes se le ha dado más importancia al estudio de los carbohidratos, dándole mayor énfasis a la digestibilidad del almidón de las legumbres tanto in situ como in vitro (Gieervani y Theophilus, 1981) y sus efectos fisiológicos sobre el metabolismo de otros compuestos alimenticios como proteínas y lípidos (Rao y Narasinga-Rao, 1978).

El almidón de diferentes variedades del frijol común ha sido aislado y caracterizado en relación a su morfología, propiedades fisicoquímicas y funcionales y cambios durante el tratamiento del procesado (Biliaderis et al. 1981, 1993).

## IMBIBICION

Las semillas vivas y muertas embeben agua y se hinchan. La cantidad embebida de agua esta relacionada con la composición química de la semilla. Las proteínas, mucilagos y pectinas son coloides y más hidrofílicos y embeben más agua que el almidón. Los granos de los cereales tales como el maíz embeben agua aproximadamente un tercio del peso de la semilla, la semilla de soya un medio del peso de la semilla (Gardner et al. 1985).

Las pentosanas son polímeros de moléculas de azúcar de 5 carbonos, son usualmente encontradas en las cubiertas de ciertas semillas. Las pentosanas embeben el agua fuertemente (Gardner et al. 1985).

Cuando la absorción es alta, ya sea inducida natural o artificialmente, el tiempo de cocción es disminuido. Sin embargo existen genotipos tales como el Bayo Victoria que exhiben ambos problemas: testa dura y alto tiempo de cocción. Existen también genotipos

que exhiben solamente el problema de alto tiempo de cocción (Castellanos et al.1993 citado por Castellanos, 1995).

El grosor de la cubierta de la semilla también mostró una correlación negativa significativa ( $r = -0.38$ ) con absorción de agua (18 hr) y una correlación positiva ( $r = 0.67$ ) con el tiempo de cocción.

Los genotipos como Bayo Victoria y Querétaro presentaron el problema de testa dura a bajos niveles de humedad, pero la testa dura fue enmascarada parcialmente conforme el contenido de humedad de la semilla se incremento (Castellanos et al.1993 citado por Castellanos, 1995).

Cuando las semillas tienen un contenido de humedad de 90 g/Kg de semilla, el problema de testa dura es detectado fácilmente, pero cuando el contenido de humedad es 120 g/Kg de semilla o mayor, todos los genotipos absorbieron cantidades similares de agua y además el problema de testa dura fue difícil de detectar (Castellanos, 1995).

Varriano-Marston y Jackson (citado por Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993) usando radioautogramas de frijoles intactos duros de cocer y descortificados, demostraron que el hilio actúa como barrera para la absorción del agua. Ellos también encontraron que la absorción del agua por los cotiledones del frijol viejo es afectada por cambios estructurales.

Paredes-López et al. (1991) sugieren el papel que juega el hilio además de los cambios e naturaleza bioquímica y fisicoquímica que ocurren en el cotiledón de semillas viejas dan como resultado una baja capacidad de absorción.

Burr et al. y Jackson y Varriano-Marston (1991) encontraron que el almacenamiento de frijoles intactos a altas temperaturas y alta humedad absorben más agua que los frijoles frescos.

Hireks et al. (1987) determinaron que la absorción del agua, pérdida de sólidos y pérdida de electrolitos de frijoles negros frescos y duros durante el remojo y proceso de cocción. Estos 3 parámetros incrementan frijoles duros durante el remojo. Ellos hipotetizaron el daño de la membrana o el deterioro es responsable de esas diferencias.

Richardson y Stanley (1991) reportan que incrementando el almacenaje produce progresivamente más dureza de cocción en el frijol, como también más alta pérdida de

sólidos y más baja capacidad de retención del agua durante el remojo. Estos autores utilizaron resonancia paramagnética para calcular la temperatura en fase de transición de la membrana y reportaron que sus parámetros tenían una alta correlación significativa con la dureza de cocción, además de los ácidos grasos del análisis de lípidos de la membrana demostraron más altos valores de temperatura de transición, lo cual es debido al incremento significativo en la proporción de ácidos grasos saturados., concluyendo que esos datos reflejan un deterioro en la membrana durante el envejecimiento que puede explicar la pérdida de sólidos y los cambios en la capacidad de retención del agua.

Maza-Calviño y Paredes-López et al.(1988) mencionan que la medición de absorción de agua por cálculos gravimétricos pueden resultar erróneos debido a que los frijoles duros cuando son remojados una capa de agua permanece entre la cubierta de la semilla y el cotiledón.

Maza-Calviño y Paredes-López et al.(1988, 1991) usaron semillas intactas y mitades de semilla de frijoles frescos y duros de cocción para determinar la capacidad de absorción del agua, encontrando que todas las semillas intactas duras de cocción exhibieron más alta absorción de agua que las correspondientes a las mitades, porque la absorción del agua fue parcialmente referida entre la cubierta de la semilla y el cotiledón. Las semillas viejas demostraron más baja capacidad de absorción del agua que los frijoles frescos.

El tiempo de cocción fue inversamente proporcional al contenido de humedad (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

El consumo rápido de agua es durante las primeras 6 horas, después de lo cual la tasa disminuye hasta que se llega al punto de saturación (Moscoso et al.1984).

Hay una correlación positiva ( $r = 0.94$ ) entre el contenido inicial de humedad de las judías y su tasa de consumo de agua durante la primera hora de remojo (Moscoso et al.1984).

La impermeabilidad al agua en frijoles secos fue inducida por el almacenamiento e la semilla a bajo contenido de humedad (Crean y Haisman 1963<sup>a</sup> y Gloyer 1921 citados por Moscoso et al., 1984).

La cubierta de la semilla es el factor principal que afecta el consumo inicial de agua en leguminosas secas (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979 citado por Moscoso et al. 1984).

La máxima cantidad de agua absorbida por los frijoles durante el remojo es afectada por el contenido de humedad inicial y al temperatura de almacenaje. La absorción (consumo) de agua por frijoles con 12.5% de humedad almacenados a 2°C no se afectó a los 9 meses, mientras que los almacenados a 32°C mostraron un descenso del 10% en el máximo de agua absorbida (Moscós et al. 1984).

El contenido de humedad de la semilla es un factor importante que controla la tasa de entrada de agua. La disolución de la lámina media puede llevarse a cabo más rápido a niveles mayores de humedad inicial de la semilla (Castellanos et al. 1995).

En general a mayor contenido de humedad después del remojo, menor tiempo de cocción. Sin embargo persistieron diferencias en tiempos de cocción entre muestras frescas y viejas a pesar del contenido de humedad del frijol (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Hay dos tipos de dureza reportados para el frijol: la impermeabilidad de la cubierta de la semilla y la relativa a la impermeabilidad del cotiledón. La remoción de la cubierta elimina su impermeabilidad, pero no se ha reportado ningún remedio para la impermeabilidad del cotiledón (Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Mue tras descortezadas de frijol mostraron tiempos muy bajos de cocimiento. En muestras frescas hasta 12 minutos, en las de 7 días 14 minutos y en la de 14 días se redujo a 20 minutos. En los almacenados por 1 año el tiempo medio de cocción fue de 27 minutos. Para gelatinización se han usado 2 métodos el de birrefringencia (Lai y Varriano-Marston 1979) y calorimetría diferencial de microscopía de barrido (Paredes-López et al. 1988).

Esa temperatura de gelatinización está en un rango de 64 a 81°C (Biliaderis et al. 1979).

Lai y Varriano-Marston (1979) consideraron que la presencia de la birrefringencia en los gránulos de almidón en frijol negro puede ser resultado de su restringida imbibición y solubilización como también su alto contenido de amilosa.

Alguna literatura indica que el almacenamiento de leguminosas bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura influyen en la cantidad de agua absorbida en el remojo (Sefa-Dedeh, 1979 citado por Jackson y Varriano-Marston, 1981).

Varios autores han encontrado que la pérdida de electrólitos de la semilla se relaciona con el envejecimiento (pérdida de vigor de la semilla) (Parrish, 1978 citado por Jackson y Varriano-Marston, 1951).

La fracción amilosa es primeramente responsable de su comportamiento fisicoquímico en el sistema almidón-agua (Greenwood, 1979). Hay un amplio rango en contenido de amilosa en gránulos de almidón del frijol variando de 10.2 en frijoles de Norteamérica (Sathe y Salunkhe 1981) a cerca de 42% de Bayocel (Paredes-López et al. 1988).

Algunos cambios pueden ocurrir cuando calentamos un sistema de agua-almidón. Eso incluye enorme hidratación, incremento en viscosidad, traslucides, solubilidad del almidón y pérdida de birrefringencia. Esos cambios son denominados gelatinización (Sathe et al. 1985).

La hidratación del frijol fue más rápida en los de periodo de almacenamiento más largo y condiciones adversas. Esto sugiere que la absorción inicial de agua es afectada por los niveles de humedad alta asociados con el almacenamiento en humedades elevadas, así como algunos aspectos relacionados con los cambios fisiológicos resultantes del envejecimiento de las semillas (Hinks et al. 1987).

La absorción final después de 18 horas de remojo depende de los valores de pérdida de sólidos (Hinks et al.1987). Cuando no hay pérdida de sólidos los valores de absorción final no fueron significativamente diferentes. Con alta humedad y alta temperatura y 18 meses con correlación de los sólidos tuvieron una imbibición significativamente mayor.

Las diferencias en cocción y absorción entre los tratamientos puede ser atribuida a la pérdida de sólidos efectuada en el periodo de 18 horas de remojo de los frijoles alta temperatura, alta humedad y 18 horas de almacenamiento (Hinks et al.1987).

Las superficies hidrófilas (coloides como proteínas), absorben agua y la tendencia con lo que hacen no solo depende de la naturaleza de la superficie, sino también de la distancia entre la superficie y las moléculas de agua que se absorben. Las que están justo sobre la superficie absorbente serán retenidos con gran fuerza, los que se hallan a cierta

distancia de la superficie lo serán menos. La adsorción de agua por superficies hidrófilas se conoce como hidratación o imbibición (Salisbury y Ross, 1994).

Las semillas fotolatas como las que no lo son, por lo general se empapan y se hinchan a menos que sean cubiertas seminales impiden la captación del agua. Incluso las semillas muertas pueden diatarse. Pero solo las semillas no latentes continúan absorbiendo agua y creciendo (después de que sus coloides se han hidratado por completo). El tiempo que se requiere para la saturación varía de sólo una hora a casi dos semanas, lo que depende de cuan permeable sean las cubiertas de la semilla o el fruto y del tamaño de la semilla (Salisbury y Ross, 1994).

Durante la hidratación o imbibición el agua entra al embrión e hidrata proteína y otros coloides (Salisbury y Ross, 1994).

Las semillas deshidratadas tienen un contenido de humedad de un 10% de su peso o menos están en un estado latente con baja actividad metabólica (Matthews, 1989).

No se necesita energía metabólica para la obtención de agua y puede ocurrir a bajas temperaturas en ausencia de oxígeno y de semillas que están muertas (Matthews, 1989).

En las semillas secas hay un bajo nivel de agua asociado con la complicada retícula de las macromoléculas que hacen los cuerpos de proteína y componentes en las paredes celulares. En este estado estas moléculas son extremadamente hidrofílicas y cuando son puestas cercanas a la fuente de agua hay una difusión de agua hacia las macromoléculas. El trabajo que envuelve en esta difusión depende de la diferencia en el estado de energía del agua en las macromoléculas y el estado de energía del agua (Matthew, 1989).

Las semillas secas deben absorber agua para germinar, la cantidad de agua absorbida depende de la temperatura, permeabilidad de los tegumentos, tamaño de la semilla y composición química de las reservas (Sivori et al. 1980).

En terminos generales la imbibición cesa cuando el contenido de humedad es del 40 al 60% de su peso fresco inicial. Este puede permanecer invariable hasta que emerja la radícula, después de lo cual el contenido de humedad de la plántula y de los tejidos de reserva aumenta rápidamente hasta valores del 70 al 90% del peso inicial de la semilla (Sivori et al. 1980).

Los primeros compartimientos celulares que se hidratan son el citoplasma, los orgánulos responsables del metabolismo energético (mitocondrias) y proteico (polisomas) y las membranas exteriores de que aquellos otros que almacenan proteínas y lípidos, puesto que estas sustancias juntamente con el almidón, son insolubles en agua (Sivori et al. 1980).

En semillas de ciertas especies de *Phaseolus vulgaris* y soya germinan muy pobremente y muestran reducción en el crecimiento o vigor cuando se hidratan sin su testa. En estas semillas, la cubierta juega un papel importante de protección durante la imbibición (Bewley y Black, 1986).

Cerca del 25% de hidratación arriba del peso seco completo es esencial para el mantenimiento de la composición de la membrana (Bewley y Black, 1986).

Con menos del 25% de agua la capa de fosfolípidos se reacomoda en una forma hexagonal y desplaza las proteínas que en el proceso de hidratación se acomodan y se integran las proteína (Bewley y Black, 1986).

Los cambios ultraestructurales en frijoles negros almacenados por cortos periodos de tiempo a alta temperatura y humedad incluyen la ruptura de organelos e inclusiones citoplasmáticas y aflojamiento de pared celular y plasmalema. Un set complejo de cambios bioquímicos pueden ocurrir el efecto de tales alteraciones estructurales. Sin embargo algunos consideran que la fitasa como un factor causal en el bajo cocimiento de las legumbres (Varriano-Marston y Jackson, 1981).

La lignificación de la lámina media en leguminosas almacenadas explican su decremento en el cocimiento (Varriano-Marston y Jackson, 1981).

La lámina media consiste de sales insolubles y pectinatos así como también componentes proteicos (Letham, 1962; Ginzburg, 1961 citado por Varriano-Marston y Jackson, 1981).

Alteraciones estructurales no afectan el modo de penetración del agua dentro el frijol, ello ayuda a explicar el incremento en la velocidad de escape de electrolitos en el frijol almacenados durante el remojo. La pérdida de la integridad del plasmalema y su retracción de las paredes de las células cotiledonaria en frijoles almacenados probablemente es sintomático de la desintegración general de la estructura de la membrana.

Plhak et al.(1989) en su estudio de comparación de métodos usados para caracterizar la imbibición del agua en frijoles de difícil cocción, concluyen que la capacidad de absorción refleja cambios texturales lo cual ocurre en la pared de las células con el desarrollo de el defecto de difícil cocción.

Castellanos et al. (1995), mencionan que las semillas más brillantes absorbieron menos agua durante el remojo. La correlación entre el color brillante de la semilla y absorción de agua fue mayor ( $r = -0.55$ ) después de 6 horas de remojo que después de 18 horas de remojo ( $r = 0.38$  a  $-0.43$ ). La absorción de agua (18 horas remojo) estuvo correlacionada negativamente ( $r = 0.69$  a  $-0.81$ ) con el tiempo de cocción de frijoles no escarificados y la correlación más alta fue después de 18 horas comparado con 6 horas de remojo.

La correlación negativa entre la absorción de agua (6 y 18 horas de remojo) y tiempo de cocción es mencionado, comentando que cuando la absorción de agua fue alta, ya sea inducida natural o artificialmente, el tiempo de cocción era disminuido.

El grosor de la testa también mostró una correlación negativa significativa ( $r = -0.38$ ) con la absorción de agua (18 horas) y una correlación positiva ( $r = 0.67$ ) con el tiempo de cocción.

Castellanos (1995) sugiere que la evaluación del problema de testa dura no se lleva a cabo inmediatamente después de la cosecha, sino hasta que el contenido de humedad sea reducido a 90 g/Kg a temperatura ambiente y a condiciones de humedad relativa ( $23 \pm 3^\circ\text{C}$ ;  $50 \pm 10\%$ ). que son las condiciones ambientales comunes para las tierras altas semiáridas de México.

## ALMACENAMIENTO

Durante el desarrollo del defecto de dureza de cocción en frijol común se han detectado algunos cambios. Esos cambios en color, contenido de humedad, actividad del agua, actividad enzimática, características de remojo y cualidades de cocimiento. Además cambios en macronutrientes (proteínas, carbohidratos y lípidos) y micronutrientes (ácido fítico, taninos) han sido relacionados con este defecto de dureza de cocción (Reyes-Moreno y Paredes-López. 1993).

Algunos autores indican que el almacenamiento de Leguminosas bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura influyen en la cantidad de agua absorbida remojo (Sefa-Dedeh, 1979 citado por Jackson y Varriano Marston 1981).

Los frijoles se desvainan a mano y se secan al sol durante 8 hrs. por día hasta alcanzar un contenido de humedad del 8.3 %. Las semillas fueron remojadas en agua durante 18 hrs. a 25°C antes de las medición. La absorción del agua fue medida en muestras de 10 g que habían sido remojadas en 50 ml de agua destilada durante 1, 3, 6, 12 y 24 hrs. a 25°C previo al peso (Hohlbergh y Stanley, 1987).

El almacenamiento del frijol bajo condiciones ordinarias de alta temperatura y alta humedad trae consigo el fenómeno de endurecimiento conocido también como defecto de difícil cocción (Reyes Moreno y Paredes López, 1993).

Los factores que se han relacionado con el endurecimiento del frijol durante el almacenamiento son humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento (Burr y Morris, 1968, citado por Bernal Lugo, 1987).

El frijol con un contenido de humedad entre 13 y 18% requiere de tiempos mayores a 6 meses para endurecerse, siempre y cuando la temperatura de almacenamiento sea menor a 30°C (Burr y Morris, 1968); pero si se almacena a 4°C no se endurece en dos años (Esquivel, 1984). Expuestos a 100% de humedad relativa y a 14°C solo requiere 14 días de almacenamiento para aumentar el tiempo de cocción.

De los climas tropicales (85% humedad relativa y 30°C), semitropicales (65% humedad relativa y 24°C) y templado (35% humedad relativa y temperatura de 15 a 20°C), se encontró que en altos niveles de humedad y temperatura (clima tropical) el frijol inicia su proceso de deterioro a los 3 meses; el tiempo de cocción del frijol almacenado fue de 3 veces más que en el control.

## CUALIDADES DEL GRANO

Las cualidades del grano están determinadas por factores tales como: aceptabilidad por los consumidores, características de remojo, cualidades del cocinado y valor nutricional. Estos factores son afectados tanto por la constitución genética del grano como por las condiciones ambientales de producción.

Las características de aceptabilidad incluyen una amplia variedad de atributos, tales como tamaño del grano, forma, color, apariencia, estabilidad a las condiciones de almacenaje, propiedades del cocinado, cualidades de los productos obtenidos y sabor. Algunas de esas características son de naturaleza subjetiva (Hostfield et al. 1984). La definición y evaluación objetiva de aceptabilidad, procesado y características de cocinado son relativamente bien establecidas para granos tales como cereales, pero no para legumbres (Bressani, 1989).

Hostfield et al. (1984) propone que los principales factores de análisis son: el remojo, color del cocinado y textura del frijol cocinado. Ellas pueden ser medidas mediante las técnicas de coeficiente de hidratación, valor de color "L" y Kramer Shear Press respectivamente.

Watts et al. (1987) citado por Reyes Moreno y Paredes López, (1993) reporta que la apariencia del frijol crudo y textura de los frijoles cocinados son críticos para la aceptabilidad del consumidor.

El defecto de alto tiempo de cocción (HTC) es la más importante característica de aceptabilidad (Aguilera y Steinsapir, 1985). El tiempo de cocinado requerido por el frijol para alcanzar la textura aceptable y características de los frijoles cocinados son factores importantes influenciados por la percepción del consumidor sobre las cualidades del frijol (Chan y Watts, 1988).

El remojo del frijol duro forma parte integral de los métodos de procesamiento del frijol como son: cocinado, germinación, fermentación y tostado.

El medio de remojo incluye agua, sal, o combinación de sal y álcalis. El remojo es por sí mismo un proceso largo, de 12 a 24 hrs. a temperatura ambiente y se han hecho muchas pruebas para hacerlo más corto. Algunos de estos métodos se inclinan por el incremento mecánico de la tasa de imbibición del agua, aplicando una técnica de filtración de vacío (Adams, 1973) y un removedor de cubierta de la semilla (Kon, 1973), pero más comúnmente incrementando la temperatura de remojo del agua para incrementar la tasa de imbibición del agua (Kon, 1979).

El remojo puede o no ser descartado antes del cocimiento dependiendo de las preferencias regionales. Algunas prácticas pueden influenciar a la calidad nutricional de los

frijoles. Algunas prácticas pueden influenciar la calidad nutricional del frijol (Bressani et al. 1988). Ciertas vitaminas solubles en agua e importantes minerales nutricionales pueden perderse al remojar en agua; si descartamos los componentes indeseables como oligosacáridos productores de flatulencia, inhibidores de enzimas proteolíticas y polifenoles (Deshpande et al. 1985).

Desphande y Cheryan (Deshpande y Cheryan, 1983) estudiaron el remojo de frijoles en diferentes medios de remojo. Los resultados sugieren que es posible remover, al menos parcialmente, ciertos factores antinutricionales de los frijoles secos; tales pérdidas pueden ser relacionadas con el medio de remojo.

Los frijoles remojados en bicarbonato de sodio o en solución de sales mezcladas, mostraron una mayor reducción en los factores antinutricionales (taninos, ácido fítico y la actividad inhibitoria de la tripsina) que los remojados solamente en agua.

Silva y Luh (1979) encontraron un 88 y 91% de reducción de oligosacáridos causantes de flatulencia en frijol "Pink" y "Black Eye" respectivamente, remojándolos en agua durante 24 hrs. a 20 °C.

Iyer et al. (1980) notaron una reducción de 33 a 51% en los oligosacáridos de la familia de la rafinosa al lavar frijoles "Kidney" y "Pinto de Norteamérica" en agua destilada o una mezcla de solución de sal (NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y Na<sub>3</sub>P<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) por 18 hrs. a 22 °C. Los mismos autores investigaron el efecto del remojo en mezclas de solución salina y agua destilada sobre el ácido fítico e inhibidores de enzimas proteolíticas del frijol, reportando una reducción del 1 al 15 % y del 3 al 13 % en la actividad inhibitoria de la quimiotripsina y tripsina respectivamente y 9 a 70 % de reducción en contenido de fitatos en los 3 frijoles.

Khokar y Chauhan (1986) encontraron que remojando las semillas del frijol mariposa en agua y sales minerales (NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y Na<sub>3</sub>P<sub>5</sub>O<sub>10</sub>) por 12 hrs. decrece el ácido fítico a valores máximos de 46 a 50°C. El remojo de los frijoles puede también ayudar a remover los taninos indeseables, particularmente de las variedades coloreadas (Reyes Moreno y Paredes López, 1993).

Bressani y Elias (Bressani y Elias, 1980) reportan una pequeña reducción (3 a 4 %) de polifenoles como efecto del remojo en el frijol común.

Laurena et al. (1986) reportan que el remojo de semillas de chicharo en agua a temperatura ambiente durante 8 a 24 hrs. resulta en una pérdida de 17 a 21 % de polifenoles respectivamente, mientras que el vinagre (0.005 a 0.65 M CH<sub>3</sub>COOH) decrece los polifenoles de 55 a 62 %, mejorando de un 6 a 14 % la digestibilidad in vitro de la proteína.

## FENÓMENO DE ENDURECIMIENTO

El almacenamiento del frijol bajo condiciones adversas de alta temperatura y alta humedad los hace susceptibles del fenómeno de endurecimiento para el ablandamiento de los cotiledones. Los frijoles con el defecto de duros de cocción son menos aceptables para el consumidor y son de bajo valor nutritivo (Bressani, 1982).

Algunos cambios en el frijol común han sido detectados durante el desarrollo del defecto de dureza de cocción. Esos cambios incluyen un incremento del contenido de humedad y actividad del agua (Aw) (Paredes-López et al. 1989), disminución de la capacidad de absorción de agua y la pérdida de la capacidad de cocción de los cotiledones y cubierta de la semilla (De León et al. 1989) y alteraciones en color y sabor. Además el almacenamiento del frijol común a temperatura elevada y humedad causa una baja digestibilidad y cualidades de la proteína (Antúnez y Sgarbieri, 1979).

Algunas enzimas han sido relacionadas con el fenómeno de endurecimiento, fitasa, pectinoesterasa, lipoxigenasa, proteasas y peroxidasas (Reyes-Moreno y Paredes-López, 1993).

Hinks y Stanley (1988) analizaron la actividad fitasa en frijol común almacenado a 30°C y 85% RH y ellos reportan que en general el frijol exhibe incrementos de la actividad de la fitasa fuera del tiempo.

Bernal-Lugo et al. (1990) reportan que en cultivo de ojo de cabra demostraron disminución en la actividad de la fitasa después de almacenar a 41°C y 75%HR durante un período de 33 días.

Hohlberg y Stanley (1987) almacenaron frijol común por 10 meses bajo 3 condiciones ambientales (30°C-85% HR, 25°C-65% y 15°C-35%) ellos demostraron la existencia de la actividad de proteasas y peoxidadas en todos los extractos de cotiledones de

frijol, aunque no hubo diferencias significativas entre los ejemplares. No hubo actividad de la polifenoloxidasas en los extractos de proteína, contradiciendo previamente los resultados reportados (González 1982).

Plhak et al. y Rivera et al. (1987, 1989) reportan que en extracto de frijol almacenado bajo condiciones tropicales es baja en un 30 a 50% que los ejemplares almacenados bajo condiciones templadas.

Driedger y Watts (1990) usaron electroforesis de gel de almidón y gel de poliacrilamida para analizar enzimas involucradas en el endurecimiento del frijol. Se observaron diferencias en patrones de esterasa, peroxidasa y ácido fosfatasa. Las variaciones con significancia en alto tiempo de cocción exhibieron solamente patrones de esterasa y fosfatasa.

Frijoles almacenados a elevada temperatura y humedad incrementan su contenido de humedad y actividad del agua durante el tiempo de almacenamiento (Aguilera y Ballivián, 1987).

Uebersax y Bedford (1980) estudiaron cambios que ocurrieron en el frijol común navy durante el almacenaje. Ellos reportaron que el patrón de crecimiento en superficie del frijol se incrementó al aumentar la humedad relativa, tiempo de almacenaje y temperatura de almacenaje; a 75% HR el máximo patrón de crecimiento ocurrió a 20°C.

González (1982), afirma que se involucran varias enzimas en el desarrollo del defecto de dureza de cocción, lo cual parece acelerar el endurecimiento en un "waz" exponencial de actividad del agua alrededor de 0.75.

Las cualidades del frijol pueden ser conservadas controlando el contenido de humedad o actividad del agua a niveles donde esos cambios indeseables sean inhibidos (Maza-Calviño, 1988).

## MORFOLOGIA Y FISILOGIA

Bernal-Lugo (1987), menciona en estructura y composición del grano de frijol que al igual que otras leguminosas como la alfalfa, la soya, el chícharo, etc., se pueden distinguir dos regiones. La cubierta del grano o testa y los cotiledones en hojas embrionarias. Entre los cotiledones se encuentra localizado el embrión que dará lugar a la futura planta. En la

superficie del grano se localiza el hilio que es la estructura que une el óvulo a la legumbre y el micrópilo, un poro en la cubierta celular que une la testa con los tegumentos de los cotiledones.

Powrie et al. (1960) realizaron un estudio sobre química, anatomía e histoquímica de la semilla de frijol navy, encontrando que las cubiertas de la semilla, cotiledones y ejes embrionarios constituyeron el 7.7%, 90.5% y 8% de materia de frijol seca respectivamente. Ellos encontraron diferencias significativas en la composición química de los tejidos de la semilla, demostraron la migración de agua a través de las cubiertas de las semillas hidratadas. Los gránulos de almidón fueron embebidos en matrices de proteína de células de parénquima. Las células de parénquima de los cotiledones presentaron paredes secundarias gruesas con numerosos hoyos pareados.

Hallan et al. (1973) y Deshpande y Cheryan (1986), investigaron el papel de la microestructura en el consumo inicial de agua durante el remojo de semillas de *Phaseolus* y del frijol wing. Consideraron que a pesar de su área relativamente pequeña el hilium y el micrópilo parecieron ser las características más importantes que influyeron en el consumo de agua. En otros resultados mencionan que la cubierta de la semilla jugó un papel dominante solo después de romperse la resistencia inicial del consumo hídrico. Ellos asumen que las variedades con alto consumo de agua inicial tuvieron cubiertas delgadas, una estructura celular poco firme sobre el lado del rafe del hilium, una fisura hilar profunda y una línea de traqueidas estrecha. La absorción de agua en las leguminosas pareció ser un proceso complejo que incluyó la cubierta de la semilla, hilium y micrópilo formando un sistema de absorción de agua integrado.

Por su parte Mikus et al. (1992), investigaron la estructura de los cuerpos de proteína y composición elemental de la fitina del germen de maíz seco (*Zea mays* L.), los cuerpos de proteína los estudiaron en la epidermis y la corteza de la radícula, así como del parénquima coleorrizal y escutelar de semillas de maíz seco, haciendo énfasis en la posición y composición elemental de los cristales globoides. En los tejidos investigados hallaron cuerpos de proteína de estructura variable. La epidermis radicular fue la unión que presentó uniformidad estructural en los cuerpos de proteínas. Estos fueron llevados con una matriz homogénea sin cristales ovoides. Mencionan que la estructura de los cuerpos protéicos y la

cantidad de matriz protéica varió en la misma célula del escutelo y coleoriza. En el caso de corteza radicular, la estructura de los cuerpos de proteína difirió entre los individuos analizados. Encontraron cristales globoides de varias medidas en los cuerpos de proteína del escutelo, coleoriza y en las capas internas de la corteza radicular. Los cristales de mayor tamaño hasta 2.0 mm de diámetro, fueron vistos en el escutelo. El microanálisis de rayos x de energía dispersa reveló la presencia de P, K, Mg y trazas de Fe y Zn en la mayoría de los cristales globoides del escutelo. Los cristales globoides de la coleoriza y corteza radicular presentaron alta cantidad de Zn y Ca. La presencia de Zinc estuvo acompañada por Ca, a expensas de K y Mg. Ellos indican que ya que el análisis de energía dispersa de rayos x (EDX) reveló diferencias significativas en los valores de Zn y Zn/p entre los tejidos analizados, es probable que la mayoría del Zn se acumule en los cristales globoides de algunos tejidos del género del maíz.

Moreno et al. (1994) investigaron la morfología y ultraestructura de la semilla de frijol de algunas especies silvestres y cultivadas, reportando variaciones en la longitud, forma, tamaño, posición del hilum, micrópilo, superficie de la semilla y color. Los valores reportados para la longitud variaron de 0.4 cm, 0.6, 0.39, 2.04, 1.35 cm para *Phaseolus anistotrichus*, *P. glaucocarpus*, *P. sp.*, *P. vulgaris* (semicultivada), *P. vulgaris* (cultivada), respectivamente y el ancho de 0.3cm, 0.5, 0.30, 1.25 y 0.70 *Phaseolus anistotrichus*, *P. glaucocarpus*, *P. sp.*, *P. vulgaris* (semicultivada), *P. vulgaris* (cultivada), respectivamente.

Moreno et al. (1994 en Maiti, 1997) reportan los valores sobre el diámetro de los gránulos de almidón siendo de 18.4 $\mu$ , 22.7 $\mu$ , 2.9 $\mu$ , 21.2 $\mu$  y 25.8 $\mu$  *Phaseolus anistotrichus*, *P. glaucocarpus*, *P. sp.*, *P. vulgaris* (semicultivada), *P. vulgaris* (cultivada), respectivamente.

## ESTRUCTURA

Rodríguez y Mendoza (1990) encontraron que las cubiertas de semillas del frijol *many* tienen 12% más de fibra, 7 veces más lignina y 23% más sílica que los frijoles normales. Este resultado indica que el alto contenido de celulosa, lignina y sílica, favorecen el endurecimiento de las semillas como también su impermeabilidad al agua.

La lignina y precursores fenólicos son encontrados en la cubierta de las semillas. La polimerización de esas subunidades fenólicas puede inducir el endurecimiento (Stanley y Aguilera, 1985).

Los cotiledones es la mayor parte de la semilla de las leguminosas, con respecto a peso y volúmenes y exhiben una alta organización estructural (Stanley y Aguilera, 1985).

Los cotiledones del frijol común contienen (10 a 50 $\mu$ ) de gránulos de almidón esféricos y pequeños (5 a 10 $\mu$ ) de redondos cuerpos proteicos embebidos en una matriz proteica (Hughes y Suaso, 1986).

Las células de empalizada de la testa varían en grosor y longitud; las células de largo tiempo de cocción (definidos como una diferencia para ablandarse durante el cocinado) fue más gruesa y larga que en la del ejemplo suave (Youseff y Bushuk, 1984).

En un estudio realizado por Rodríguez y Mendoza (1990) sobre semillas de frijol many normales y duras, encontraron una más rígida y alta capa de estructura de empalizada en la semilla dura que en la normal.

Las paredes de las células de la testa de frijol común tienen cantidades apreciables de celulosa (56.4 a 60.7%), hemicelulosa (17.4 a 25.8%), sustancias pécticas (11.1 a 15.9%) y lignina (1.4 a 1.9%), mientras que en el cotiledón se encontró celulosa (25.9 a 30.9%), hemicelulosa (15.9 a 23.7%), sustancias pécticas (28.5 a 41.2%) y lignina (0.4 a 0.6%). Algunos investigadores relacionan la composición de la testa de la semilla con las cualidades del cocinado (Rodríguez y Mendoza, 1990). Muller (1967) concluye que el contenido de celulosa y lignina de la cubierta de la semilla y posiblemente el contenido de las paredes celulares del cotiledón es un importante parámetro en las cualidades de cocinado.

Los cotiledones son especialmente ricos en celulosa (25.9 a 30.9%), hemicelulosa (15.9 a 23.7%) y sustancias pécticas (28.5 a 41.2%); las sustancias pécticas constituyen la mayor parte de la lamina media, la cual provee de la principal adhesión que sujeta a la mayoría de las células de la planta y proporciona la resistencia física a este tejido (Stanley y Aguilera, 1985). Existe evidencia que ese cemento intercelular ocurre como un gel polielectrolito, el cual tiene cationes divalentes en forma quelada. La organización de esas

moléculas dentro de fibrils tiene una influencia significativa en la textura (Dull y Leeper, 1975). Las sustancias pécticas han sido relacionadas con las cualidades de cocinado de las legumbres (Bati, 1990).

Las paredes de las células de los cotiledones contienen 0.4 a 0.6% de lignina. Algunas investigaciones (Hincks y Stanley, 1987) han sugerido que el contenido de lignina puede afectar las cualidades del cocinado del frijol común.

El tamaño, forma y birrefringencia de los gránulos de almidón son frecuentemente característicos de las especies de plantas y de sus estado de maduración (Desphande y Damodaran, 1990). Paredes-López et al. (1988) examinaron al microscopio de barrido almidón de frijol negro Querétaro y Canario. Los gránulos de almidón fueron de redondos a ovales y sus superficie fueron bastante lisas y sin fisuras. Observaciones similares se hicieron en el almidón aislado de frijoles frescos (Maza-Calviño, 1988). Otros estudios en dos nuevas variedades de frijol común Negro Querétaro y Bogocel reportan que la longitud del gránulo de almidón fue de 18 a 26 $\mu$ . Esos resultados sobre el tamaño del gránulo fue comparable a lo reportado en gránulos de almidón de *Phaseolus vulgaris* (Naivikul y D'Appolonia, 1979).

La cubierta de la semilla y las paredes celulares de los cotiledones resultan de interés en el cocimiento y defecto textural en leguminosas (Bati, 1990). Las paredes celulares de los cotiledones tienen una estructura más flexible que las paredes de las células de las cubiertas de la semilla de acuerdo a su composición (Rodríguez y Mendoza, 1990).

Las condiciones media (25°C y 65% HR) y alta (30°C y 85% HR) se han reportado que producen defectos de endurecimiento (Antunes, 1979 citado por Hohlberg y Stanley, 1987).

Temperatura y humedad alta indujeron el endurecimiento que fue más pronunciado en los periodos en tiempo más largos (Hincks et al. 1987).

El patrón bajo de absorción de agua se piensa que es el resultado de la falta de separación e las células ocasionado por estos dos mecanismo, especialmente la incorporación de lignina en la matriz de la pared celular. En los controles el cocimiento conduce a un rompimiento de la lámina media rompimiento impedido ya sea por

entrecruzamiento de pectato de Ca y Mg o por la lignina y las células individuales se les permite separación unas de otras (Hinks et al.1987).

En frijoles duros la separación de las células impide una mayor hidratación.

Los frijoles duros no continúan hidratándose durante el cocimiento al mismo grado que los controles. Se puede esperar que afecte la gelatinización del almidón y subsecuentemente la textura final del cocimiento. Con estos resultados se demuestra que los frijoles defectuosos (duros) no continúan hidratándose durante la cocción al mismo grado que los controles. Esta diferencia en absorción de agua se esperaría que afectara la gelatinización del almidón y subsecuentemente la textura final de cocimiento. En el supuesto de que todos los compuestos en el tejido del frijol se hidraten igualmente, el volumen de las fracciones de agua (w) para HH8 y LL18 al final del proceso de cocimiento fue respectivamente 0.69 y 0.74 (densidad del agua 1.00 y del almidón 1.5) (Donovan, 1979 citado por Hinks et al.1987). Se han encontrado que son críticos para el proceso de gelatinización (0.69 y 0.74 de agua absorbida) (Hinks et al.1987).

Otros cambios estructurales observados durante la cocción del grano de frijol incluyen la gelatinización de los gránulos de almidón (Holberg y Stanley, 1987 citado por Bernal-Lugo, 1987).

El frijol con un contenido de humedad entre 13 y 18% requiere de tiempos mayores a 6 meses para endurecerse, siempre y cuando la temperatura de almacenamiento sea menor de 30°C (13 Burr y Morris, 1968) pero si se almacenan a 4°C no se endurecen ni en 2 años (Esquivel, 1984) expuestos a 100% de humedad relativa y a 14°C solo requiere 14 días de almacenamiento para aumentar el tiempo de cocción.

El cambio en la textura del grano durante la cocción se debe a los cambios estructurales y de composición de la pared celular (Varriano-Marston y Jackson, 1988; Jones y Boutler, 1985 citados por Bernal-Lugo, 1987).

El aumento en el valor nutritivo ocurre por cambios en la composición del citoplasma de las células del cotiledón (Tobin y Carpenter, 1978).

Bajo ciertas condiciones de almacenamiento el frijol se ve afectado por cambios indeseables que alteran negativamente su calidad (Elias et al.1975 citado por Bernal-Lugo, 1987).

El citoplasma de las células del cotiledón granos elípticos de almidón, embebidos en una matriz que consiste de cuerpos proteicos o granos de aleurona. Los cuerpos proteicos poseen inclusiones cristalinos o globoides, los cuales son ricos en ácido fítico. El ácido fítico o hexafosfato de mioinositol, es la forma en que las semillas de las leguminosas almacenan fosfatos inorgánicos. Los contenidos de ácido fítico en el grano varían de 0.2 a 2.5% en peso seco.

La estructura polar del ácido fítico le proporciona la fuente potencial quelante por lo que interacciona con cationes mono y divalentes que incluyen a ciertos minerales esenciales de la dieta como  $Zn^{+2}$  al que hace biológicamente inaccesible para su absorción. En el grano de frijol el 75% del ácido fítico se encuentra soluble en forma quizá de un complejo proteína-ion divalente-fitina. El resto se encuentra en forma insoluble depositado en globoides cristalinos del cuerpo proteico (Bernal-Lugo, 1987).

Stanley et al. (1990) encontraron que la cantidad de agua absorbida por frijol común después del almacenamiento fue relacionado al color del cultivo, al volumen de la semilla, al área del hilio, pero no al grosor de la cubierta del frijol.

Varriano-Marston y Jackson (1981) llevaron a cabo un estudio autoradiográfico y determinaron que el modo de penetración del agua en los frijoles almacenados intactos y en los frijoles frescos no difiere substancialmente. Dentro de 24 horas el agua entra a la semilla en el hilio y es transportada a la periferia del cotiledón vía células del parénquima esponjoso de la testa y en el espacio entre los cotiledones. Los autoradiogramas de los frijoles remojados durante 8 horas mostró que la penetración del agua incrementó uniformemente desde la periferia hasta el centro de la semilla como va progresando el tiempo de remojo y que ningún grado de concentración ocurre a través del cotiledón. Después de 14 horas de remojo el agua penetró el cotiledón completo, comprobado por el autoradiograma negro completo. Los autoradiogramas fueron también hechos a frijoles descorticados para observar la respuesta de la absorción del agua sin medir la acción del hilio. El área completa alrededor de la periferia del cotiledón de frijoles frescos y viejos obscureció uniformemente después de que los frijoles fueron remojados 1 hora, después de 2 horas de remojo, el agua penetró el centro de los cotiledones. Muestras frescas y viejas mostraron respuestas similares. El ritmo de incremento de hidratación de descorticados

versus frijoles intactos indican que la **transportación del agua a través del hilio es menor que el ritmo de difusión a través de las semillas. El hilio , por eso, es la barrera limitante en imbibición.**

Varriano-Marston y De Omana (1979) estudiaron el efecto de sales de sodio en la química y la morfología en los frijoles negros. La cantidad de sodio en el agua de remojo no tuvo efecto significativo en la cantidad de agua absorbida por los frijoles, el pH fue **determinantemente crítico.** Sin embargo las sales de sodio afectaron el contenido mineral como también la cantidad de sustancias pécticas solubilizadas del frijol durante el periodo de remojo y de cocción. Las alteraciones más grandes de estos componentes ocurrió cuando los frijoles fueron remojados en la solución que contenía NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y Na<sub>5</sub>P<sub>3</sub>O<sub>10</sub>, microanálisis de rayos X sugieren que el **mecanismo de intercambio de iones y atrapados fue operativo en la disolución del cemento intercelular y la separación de la célula subsecuente.** Silva et al. (1981) usaron la misma mezcla de sales para remojar frijoles y reportaron que era más efectivo en promover el ablandamiento del frijol durante el cocimiento cuando se compara con el no remojado o remojo en agua destiladas. García-Vela y Stanley (1989) evaluaron el efecto de la dureza del pH iónico en la capacidad de retención del agua de HTC y el control de frijoles negros. La retención del agua fue **significativamente reducida en el rango del pH de 3.5 a 5.1 en los frijoles control, pero el efecto no fue tan pronunciado con muestras HTC que tuvieron una menor retención de agua en cada muestra de pH probado.** Los valores de retención de agua en frijoles controlados tienden a incrementar con el más alto, aunque este efecto no fue aparente para los frijoles HTC.

Las paredes de las células de los cotiledones contienen apreciables cantidades de sustancias pécticas de 25.5 a 41.5%, las cuales proveen la principal adhesión que une las células de las plantas y da la resistencia física a los tejidos (Srisuma et al. 1991).

Las sustancias pécticas **son un grupo de polisacáridos asociados de las paredes primarias de las células y regiones intercelulares de las plantas superiores.** El mayor componente es una cadena de unidades de D-galacturónicos en los cuales varían las proporciones de los grupos ácidos presentes como metil ésteres (Aspinall, 1980).

Características estructurales responsables en la absorción de agua en semillas de cowpeas fueron estudiadas por Sefa-Dedeh y Stanley (1979) y estos encontraron que algunos factores anatómicos como cubierta de la semilla, grosor, volumen de la semilla y tamaño del hilio y en menor grado contenido de proteína son de importancia dependiendo del estado rehidratación.

Hsu et al. (1983), estudiaron los factores que afectan la absorción de agua de las semillas de soya durante el remojo y encontraron que la tasa de absorción de agua de semillas varía con la variedad, pero no está correlacionada con el contenido de proteína. Esta correlación con el tamaño y densidad de los frijoles estudiados, aunque las correlaciones fueron relativamente bajas.

Deshpande et al. (1984) investigaron la interrelación entre ciertas propiedades físicas y químicas de 10 cultivares de frijoles comunes. Ellos reportaron que la tasa inicial de absorción de agua (6 horas de remojo) fue positivamente correlacionada con la densidad ( $r = 0.7$ ) y la densidad de masa ( $r = 0.60$ ) valores de la semilla. La absorción de agua final de un cultivar fue significativamente correlacionada con su longitud/ancho, diámetro ( $r = 0.80$ ) y peso ( $r = 0.83$ ) eliminando cualquier influencia debido a volumen. Semillas delgadas y largas de frijol kidney con alto L/B tienen valores de absorción más de agua cuando se comparan con pequeñas tipos de semillas redondas.

## MATERIALES Y METODOS

Las variedades utilizadas en el presente estudio se obtuvieron de los campos de la Facultad de Agronomía, localizada en Marín Nuevo León. Las variedades que se sometieron a estudio son: Selección 4 y Marco Vinicio.

Las semillas de frijol fueron almacenadas en frascos de vidrio a temperatura ambiente durante las 3 etapas (0, 6 y 12 meses).

### I.- Parámetros morfológicos de la semilla

a) **Forma:** esta característica se determinó visualmente y a criterio del observador.

b) **Color:** se determinó en forma visual y a criterio del observador.

c) **Tamaño:** Para apreciar esta característica se midió la longitud, ancho y grosor de 100 semillas, obteniéndose en el caso de la longitud, semillas largas (15 a 19 mm), medias (10 a 14 mm) y cortas (7 a 9 mm). Algo similar se hace con el ancho y así se determinan semillas anchas (9.5 mm o más), medias (7 a 8.5 mm) y angostas (5.6 a 6.5 mm).

d) **Peso de la semilla:** Para obtenerlo se pesaron 100 granos de cada una de las muestras, agrupándolos y formando los siguientes grados: Pesado (40 g o más), de peso medio (27 a 37 g) y liviano (15 a 22 g).

e) **Peso de la testa y peso de cotiledón:** a 100 semillas de frijol a los 0 (recién cosechadas), 6 meses y 12 meses se les separó la testa manualmente y se pesaron, estos pesos se realizaron por triplicado.

### II.- Parámetros anatómicos

Para estos parámetros se consideraron diferentes técnicas que a continuación se describen:

**Técnica de inclusión en parafina para microscopía óptica (Johansen, 1940)**

- 1.- Obtención de la muestra
- 2.- Fijación: se realizó en AFA durante 48 horas.
- 3.- Deshidratación: se realizó en alcohol etílico de la siguiente manera: se lavaron las muestras con alcohol 50%, se pusieron por 1/2 en alcohol 70%, por 1 1/2 en alcohol al 80%, en alcohol 90% durante 2 horas. se pasaron a alcohol 96 haciendo 2 cambios cada 2 horas, por último en alcohol absoluto realizando 4 cambios cada 2 horas.
- 4.- Clarificación: esta se realizó en mezcla de alcohol-xilol (3:1, 1:1, 1:3) durante 12 hrs mínimo.
- 5.- Inmersión en xilol puro haciendo 4 cambios cada 2 horas.
- 6.- Infiltración en parafina, durante 48 hrs a 60°C.
- 7.- Pasar las muestras a la estufa y agregar parafina limpia durante 2 días, dejar una noche en parafina limpia
- 8.- Inclusión de las muestras en parafina, orientándolas adecuadamente.
- 9.- Enfriar en un baño con agua fría y guardar en refrigeración hasta el endurecimiento de la pieza.
- 10.- Retirar el bloque de parafina del molde y cortarlo en forma de pirámide.
- 11.- Obtención de los cortes en el microtomo de parafina (Microtomo American Optical, Model 820, Serie 15903). Los cortes se realizaron a nivel del micrópilo con un grosor de 17 $\mu$ .
- 12.- Extender los cortes sobre la superficie de un baño maría.
- 13.- Montaje de los cortes en albúmina.
- 14.- Desparafinar en xilol durante 12 hrs mínimo.
- 15.- Inmersión en xilol durante 5 minutos.
- 16.- Transferir a mezcla de xilol-alcohol, enseguida a alcohol absoluto, 96% y 80% durante 3 minutos en cada solución.
- 17.- Deshidratar sucesivamente en alcohol 80, 96 y 100 por 5 minutos en cada uno.
- 18.- Introducir en xilol durante 5 minutos.
- 19.- Montaje en resina sintética.

Para la longitud y ancho de los gránulos de almidón a la 1, 2, 3, 4 y 18 horas, las semillas se hidrataron durante estos tiempos, posteriormente se realizaron cortes a mano con un grosor aproximado de 80 a 100 $\mu$  a nivel del micrópilo.

### **Técnica de maceración**

La maceración de la testa tuvo como objeto el estudio de las macroesclereidas y microesclereidas (largo y ancho), ya que de esta forma se pueden apreciar como células individuales, para esto se utilizó el método de Schultze (D'Ambrogio, 1986) el cual consiste en lo siguiente:

- 1.- Las semillas de frijol de ambas variedades se les separó la testa de los cotiledones
- 2.- La testa se colocó en tubos de ensayo con ácido nítrico hasta cubrir la muestra
- 3.- Se colocaron sobre mechero con llama suave
- 4.- Una vez macerado el material en estudio se enjuagan varias veces hasta eliminar el exceso de ácido
- 5.- Posteriormente las muestras se pasaron a tubos de ensayo limpios con glicerina
- 6.- Se colocó el material sobre un portaobjetos y se realizaron las mediciones correspondientes

### **Técnica de inclusión en resina utilizada para observaciones en microscopio electrónico de transmisión**

- 1.- Las muestras se colocan en glutaraldehído al 5%, en Buffer de fosfato 0.12 M por 5 días a 4°C.
- 2.- Se lavan las muestras en buffer 0.1 M con 3% de sacarosa y 0.2 de milimolar de CaCl<sub>2</sub>.
- 3.- Se pasan a tetróxido de Osmio al 2% en Buffer de fosfato 0.1 N con 3% de sacarosa y 0.2 milimolar de CaCl<sub>2</sub> a 4°C por 3 horas.
- 4.- Posteriormente se deshidratan las muestras en una batería de concentraciones crecientes de acetona al 70, 80, 90, 95 y 100% durante 15 minutos cada uno.
- 5.- Después se hacen dos cambios de óxido de propileno como viene en la presentación.
- 6.- Se infiltra la mezcla de resina epóxica (Spurr) bajo el siguiente esquema. Oxido de propileno: resina 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 y 1:3 durante 30-60 minutos cada paso y resina pura durante 1 hora en 3 repeticiones a temperatura ambiente.

- 7.- Se incluyen las muestras en cápsulas de polietileno y se hacen polimerizar los bloques a 60-70° C durante 48 horas.
- 8.- Corte en ultramicrotomo Porter Blum MT1 (60-90 nm de grosor) cuchilla de vidrio.
- 9.- Coloración: acetato de arilo y citrato de plomo.
- 10.- Observación y toma de fotografías en EM-9 S-2.

### **Técnica de barrido**

- 1.- Se fracturó la semilla del frijol escogiendo de la parte media del cotiledón un pedazo que incluya la testa.
- 2.- El trozo se pone sobre las bases en forma de cilindro, adhiriéndose con cinta de doble lado.
- 3.- Enseguida se cubren con oro en un recubridor iónico.
- 4.- Por último se procede a hacer la observación en un microscopio electrónico de barrido de marca ISI MINISEM-5 y se toman las fotografías con película Polaroid 664.

### **Medición de las estructuras**

La medición en  $\mu$  de los parámetros anatómicos, se presentan por separado según la técnica utilizada.

Los parámetros anatómicos considerados son los siguientes:

#### **Cortes transversales permanentes**

Grosor de la testa

Grosor de la capa de esclereidas de la testa

Grosor de la capa de macrosclereidas de la testa

Grosor de la capa de microesclereidas de la testa

Grosor de la capa de parénquima de la testa

Longitud de las células de la parte externa de los cotiledones

Ancho de las células de la parte externa de los cotiledones

Longitud de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones

Ancho de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones

Longitud de las células de la parte media de los cotiledones

Ancho de las células de la parte media de los cotiledones

Longitud de los granulos de almidón de la parte media de los cotiledones

Ancho de los granulos de almidón de la parte media de los cotiledones

Longitud de las células de la parte interna de los cotiledones

Ancho de las células de la parte interna de los cotiledones

Longitud de los granulos de almidón de la parte interna de los cotiledones

Ancho de los granulos de almidón de la parte interna de los cotiledones

### **Maceración**

Longitud de las macroesclereidas

Ancho de las macroesclereidas

Longitud de las microesclereidas

Ancho de las microesclereidas

### **Cortes transversales temporales**

Longitud de los granulos de almidón con 1 hora de hidratación

Ancho de los granulos de almidón con 1 hora de hidratación

Longitud de los granulos de almidón con 2 horas de hidratación

Ancho de los granulos de almidón con 2 horas de hidratación

Longitud de los granulos de almidón con 3 horas de hidratación

Ancho de los granulos de almidón con 3 horas de hidratación

Longitud de los granulos de almidón con 4 horas de hidratación

Ancho de los granulos de almidón con 4 horas de hidratación

Longitud de los granulos de almidón con 18 horas de hidratación

Ancho de los granulos de almidón con 18 horas de hidratación

### **III.- Parámetros fisicoquímicos**

a) **Volumen de 100 semillas:** se determina indirectamente por medio de la cantidad de agua que desplazan 100 granos. De acuerdo con la variación observada en las muestras se forman los siguientes grados: voluminosos (50 cc o más) y de poco volumen (14 a 20 cc).

b) **Densidad de la semilla:** Este valor se toma sacando la relación peso sobre volumen y se obtienen los siguientes grados: denso (1.5 o más), densidad media (1.1 a 1.4) y poca densidad (0.83 a 1.0).

c) **Análisis bromatológico:** se determinó la humedad, grasa, ceniza, proteína, fibra y extracto libre de nitrógeno (ELN) siguiendo los procedimientos recomendados por la AOAC (1990).

d) **Coefficiente de hidratación:** a los frijoles de cada variedad se les determinó la humedad y si esta pasaba de 10 se les bajo a 8 y 10. posteriormente los frijoles se colocaron en frascos de vidrio y se mantuvieron cerrados durante el tiempo necesario. Se pesaron 25 frijoles al azar y se les agregaron 15 ml de agua destilada o sea una relación 3:1 (3 partes de agua destilada por una de frijol), los 25 frijoles pesaron entre mas o menos 4 a 5 gramos, razón por la cual se le agregó 15 ml de agua destilada. Se eliminaron los frijoles quebrados y dañados mecánicamente.

Los tiempos que se tomaron para evaluar el peso fueron a la hora, 2, 3, 4 y 18 horas. Para cada tiempo se realizaron 3 repeticiones para cada variedad (Selección 4 y Marco Vinicio).

En los tiempos indicados se paso por un colador el agua con los frijoles y el agua se puso en un vaso de vidrio y se midió el líquido en una probeta. Cuando hubo pérdida de líquidos se volvió a ajustar a 15 ml. Al frijol de cada repetición y para cada hora se le secó el exceso de agua con papel secante, sanitario o servilleta y se pesaron inmediatamente anotando el peso adquirido por la hidratación.

El número total de frijoles para el coeficiente de hidratación fueron 375 (15 x 25)

$$CH = \frac{PI - PI_0}{PI_0} \times 100$$

Los frijoles de la hora, 2, 3, 4 se llevaron al frasco y se les ajusto el agua a 15 ml y se dejaron que cumplieran 18 horas de remojo.

Después de haber cumplido todas las 18 horas de hidratación se llevaron a cocción

**e) Tiempo de cocción:** después de haber llevado todos los frijoles de las 2 variedades (Selección 4 y Marco Vinicio) a 18 horas de hidratación, se contaron y pesaron, descartándose los rotos y dividiéndose posteriormente la muestra en tres partes iguales para hacer la prueba de cocción.

Una vez dividida se pusieron los frijoles de cada porción en un vaso de Berzelius de 600 ml y se le agregó agua destilada en proporción 1:10 (1 muestra del frijol pesado en gramos y 10 veces el peso del agua destilada).

El agua destilada sola se puso a hervir en las 3 repeticiones, cuando empezó a hervir se le agregaron los frijoles y a partir de ese momento se empezó a contar el tiempo, cada 20 minutos se sacaba el frijol y se contaban los rotos y se eliminaban, volviendo a poner el agua a hervir y agregar de nuevo el frijol y contar otros 20 minutos, así hasta que el 90 % de los frijoles presentaba alguna rotura.

**f) Densidad del caldo de cocción:** se pone a tara un matraz de aforación de 25 ml en la estufa a 100°C por 2 horas mínimo o desde un día antes.

A las 2 horas se saca el el matraz se enfría por 15 minutos en un desecador y se pesa. Este procedimiento se realizó así hasta obtener un 90% de frijoles cocidos de la muestra inicial. El líquido en este caso el caldo de los frijoles, ya frío se agitó para homogenizar la muestra y se coloca en el matraz de aforación, pesándose otra vez y se obtuvo la densidad del caldo de cocción

$$D = m/v$$

M = peso del matraz más 25 ml del líquido aforado y menos el peso del matraz solo

V = volumen que le cabe al matraz

#### **IV Contenido de minerales**

Se seca la muestra (testa y cotiledón) en la estufa a 70°C o 100°C, enseguida se pesa un gramo de muestra y se coloca en un crisol, posteriormente se carboniza en la estufa hasta obtener una pastilla negra que se desprende fácilmente del crisol, esta pastilla se mete a la mufla a 500°C por un día. Al siguiente día se saca y se deja enfriar en un desecador por media

hora o hasta que se enfríe. Se pasa después a disolver esta ceniza en 5 ml de HCl al 20% (se afora con agua bidestilada). Con esta solución se disuelve la ceniza y se filtra con papel Whatman 41 y se afora con agua bidestilada a 25 ml. Si no se utiliza de inmediato se guarda en un recipiente de plástico en el refrigerador hasta su uso.

Los minerales cuantificados (ppm) fueron:

Magnesio (Mg)

Sodio (Na)

Potasio (K)

Calcio (Ca)

Manganeso (Mn)

Hierro (Fe)

Cobre (Cu)

Zinc (Zn)

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se efectuaron análisis de estadística descriptiva para todos los parámetros evaluados.

Se realizaron comparaciones con la Prueba de "t" de student para determinar diferencias a un nivel de significancia de 0.05, para las variables fisicoquímicas, morfológicas, anatómicas y contenido de minerales (testa y cotiledón) en la semilla de 2 variedades de frijol a 0, 6 y 12 meses.

Un análisis de varianza (ONEWAY) se realizó para establecer las diferencias para las variables fisicoquímicas, morfológicas, anatómicas y contenido de minerales a los 0, 6 y 12 meses para cada una de las variedades de frijol. Esto se realizó aun nivel de significancia de 0.05.

Además se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey para determinar los grupos de homogeneidad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Parámetros morfológicos de la semilla

En los Cuadros 1 y 2 se muestran los valores promedio y desviación estándar de las variables consideradas en la evaluación morfológica (largo, grosor y ancho de la semilla; peso de la testa y del cotiledón; volumen y densidad de la semilla, densidad del caldo de cocción). Ahí mismo podemos observar los resultados de la prueba de "t" de student aplicada para comparar las variedades Marco Vinicio y Selección 4 en tres diferentes tiempos con respecto a las variables antes mencionadas. A este respecto tenemos que ambas variedades fueron diferentes respecto al ancho de la semilla en los 3 tiempos, en tanto el largo de la semilla mostró diferencias entre las variedades sólo a los 6 y a los 12 meses y el grosor de la misma sólo en el último período.

Ahora bien en cuanto al comportamiento de las variables morfológicas antes mencionadas con respecto a los tiempos (0, 6 y 12 meses) podemos observar en los Cuadros 3 y 4, Figuras 1 y 2, que en ambas variedades se observaron diferencias mínimas significativas respecto al peso de la semilla, peso de la testa y cotiledón, así como el ancho de la semilla y la densidad de la misma (Figuras 8 y 9). En lo que se refiere al largo de la semilla sólo se encontraron diferencias con respecto a los tiempos para la variedad Marco Vinicio y en cuanto al grosor de la semilla sólo hubo diferencias significativas para la variedad Selección 4. Las variables del volumen de la semilla y densidad del caldo de cocción no mostraron diferencias para ninguna de las variedades con respecto al tiempo de almacenamiento. Además de esto es importante mencionar que a los 12 meses se observó que la mayoría de las variables morfológicas estudiadas presentaron variación en sus valores promedio con respecto a su valor inicial (0 meses) con excepción de las variables largo de la semilla, volumen de la semilla y densidad del caldo de cocción que no mostraron diferencias a los 0 y 12 meses en ambas variedades. Por otra parte en la variedad Marco Vinicio tampoco se presentaron diferencias significativas a los 0 y 12 meses para el ancho de las semilla, pero para la variedad Selección 4 si se observaron diferencias.

En cuanto a la forma de las semillas para la variedad Selección 4 se encontró que estas tienen forma arriñonada, mientras que para Marco Vinicio la forma es cilíndrica;

para el color se encontró que la variedad Selección 4 no tiene un color uniforme, sino que es pinto crema con manchas de color café, mientras que Marco Vinicio tiene un color bayo (Figura 8); en lo referente a la longitud de la semilla ambas variedades quedan incluidas en la clasificación de longitud mediana, mientras que para el grosor están en la clase de angostas. Para el peso de la semilla ambas variedades están incluidas en livianas. De acuerdo con los resultados obtenidos para el volumen de 100 semillas se clasifican en la clase de poco volumen, en lo que respecta a la densidad de la semilla quedan en la clase de densidad media, ambas variedades.

### **Parámetros anatómicos**

Los valores promedio y desviación estándar de las variables anatómicas consideradas para cada variedad a los 0, 6 y 12 meses son mostrados en el Cuadro 5. En las Figuras 11, 12, 13, 14, 15 y 16 podemos apreciar diversas características anatómicas de ambas variedades. En cuanto al análisis de estas variables con respecto al tiempo de almacenamiento tenemos para la Selección 4, las variables con diferencias altamente significativas a los 0, 6 y 12 meses fueron: grosor de la capa de microesclereidas de la testa, longitud y ancho de las células de la parte media de los cotiledones, ancho de las células de la parte media de los cotiledones, ancho de los gránulos de almidón de la parte media de los cotiledones, longitud y ancho de las células de la parte interna de los cotiledones, longitud y ancho de las macroesclereidas, longitud y ancho de las microesclereidas, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 1 hora de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 2 horas de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 3 horas de hidratación, longitud de los gránulos de almidón con 4 horas de hidratación y ancho de los gránulos de almidón con 18 horas de hidratación (Cuadros 6, 8 y 9). Para Marco Vinicio grosor de la testa, grosor de la capa de células de parénquima de la testa, longitud y ancho de las células de la parte externa de los cotiledones, ancho de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, longitud y ancho de las células de la parte media de los cotiledones, longitud y ancho de los gránulos de almidón de la parte media de los cotiledones, ancho de los gránulos de almidón de la parte media de los cotiledones, longitud de los gránulos de almidón de la parte interna

de los cotiledones, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 1 hora de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 2 horas de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 3 horas de hidratación, longitud de los gránulos de almidón con 4 horas de hidratación, ancho de los gránulos de almidón con 18 horas de hidratación (Cuadros 6, 8 y 9).

Donde se presentaron diferencias significativas a los 0, 6 y 12 meses fue en las variables de: grosor de las capas de esclereidas de la testa, longitud y ancho de la células de la parte externa de los cotiledones, longitud de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, longitud de los gránulos de almidón de la parte interna de los cotiledones y para Marco Vinicio fueron grosor de la capa de microesclereidas de la testa, ancho de las macroesclereidas, ancho de las microesclereidas, ancho de los gránulos de almidón con 4 horas de hidratación (Cuadros 6, 8 y 9).

De estos resultados se puede inferir que en las ambas variedades casi todos los parámetros hay diferencias en las 3 etapas (0, 6 y 12 meses), pero hay más diferencias en Selección 4 que en Marco Vinicio.

Comparando las 2 variedades en las 3 etapas (0, 6 y 12 meses) se encontró que hay diferencias altamente significativas para los 0 meses en las siguientes variables: grosor de la testa, grosor de las capas de esclereidas de la testa, grosor de la capa de microesclereidas de la testa, grosor de la capa de células de parénquima de la testa, ancho de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, longitud de las células de la parte media de los cotiledones, ancho de las células de la parte media de los cotiledones, longitud de las células de la parte interna de los cotiledones, ancho de las macroesclereidas, ancho de las microesclereidas, ancho de los gránulos de almidón con 1 hora de hidratación, longitud de los gránulos de almidón con 2 horas de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 18 horas de hidratación. También se encontraron diferencias significativas en longitud de las células de la parte externa de los cotiledones y longitud de los gránulos de almidón con 3 meses de hidratación (Cuadro 7).

Para los 6 meses hubo diferencias altamente significativas en la longitud y ancho de las células de la parte externa de los cotiledones, ancho de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, longitud de las células de la parte media de los cotiledones, ancho

de los gránulos de almidón de la parte interna de los cotiledones, longitud y ancho de las microesclereidas, ancho de los gránulos de almidón con 1 hora de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 3 horas de hidratación, longitud de los gránulos de almidón con 4 horas de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 18 horas de hidratación. Solo hubo diferencias significativas para grosor de la testa, ancho de las células de la parte media de los cotiledones, longitud de las células de la parte interna de los cotiledones, longitud de las macroesclereidas, ancho de los gránulos de almidón con 2 horas de hidratación (Cuadro 7).

A los 12 meses hubo diferencias altamente significativas para el grosor de la testa, grosor de las capas de esclereidas de la testa, grosor de la capa de macroesclereidas de la testa, grosor de la capa de células de parénquima de la testa, ancho de la capa de células de la parte externa de los cotiledones, longitud de los gránulos de la parte interna de los cotiledones, ancho de los gránulos de almidón con una hora de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 2 horas de hidratación, longitud y ancho de los gránulos de almidón con 3 horas de hidratación, ancho de los gránulos de almidón con 18 horas de hidratación. Se encontraron diferencias significativas para longitud de los gránulos de almidón de la parte externa de los cotiledones, longitud de los gránulos de almidón de la parte media de los cotiledones, longitud de las células de la parte interna de los cotiledones, longitud de los gránulos de almidón con 4 y 18 horas de hidratación (Cuadro 7).

Deshpande y Chergan (1986) mencionan que el arreglo de las capas de la testa de semillas de 4 variedades estudiadas de leguminosas en el grosor de las capas de la testa varían en un rango de 95-215 $\mu$ . También mencionan que los frijoles alados tienen al menos el 50% más gruesa la capa de la testa que los frijoles pequeños blancos.

Miklas et al. (1987) citan en su estudio sobre la cubierta de semillas de *Cicer* sp (garbanzo) y su escarificación que la capa de macroesclereidas fue de aproximadamente 48 $\mu$  de longitud, pero ligeramente más largas en la región del hilium y un tercio más largas cerca de la carúncula. En la carúncula, sin embargo las macroesclereidas fueron cortas y delgadas; hubo grupos de células debajo de las macroesclereidas en el carúncula. Mencionan también que cuando se ven longitudinalmente la capa de macroesclereidas en el hilium demuestran una curva en forma de S que forman una depresión. Las

osteoesclereidas forman una capa simple interior de la capa de las macroesclereidas, con grandes espacios de aire entre ellas. Las osteoesclereidas fueron más cortas y más gruesas cerca de la punta de la semilla (área más lejana del hilum), siendo más delgadas y más largas cerca del hilum.

La discusión sobre la testa sólo se hace con referencia a los valores que se obtuvieron para las macroesclereidas, microesclereidas y la presencia de la capa de células de parénquima que se encuentra debajo de las esclereidas, debido a que la mayoría de los autores consultados nada más lo consideran así, a excepción de Miklas et al. (1987) que también da valores para la capa de macroesclereidas en longitud.

Deshpande y Cheryan (1986) dan valores para el grosor de la testa de frijol mencionando rangos de 65-90 $\mu$ , por su parte Miklas et al. (1987) mencionan valores para las células de las macroesclereidas en *Cicer* sp (garbanzo) reportando que esta capa mide aproximadamente 48 $\mu$  de longitud.

En el presente estudio se encontraron valores que estuvieron en un rango de 85.81 $\mu$  a 104.24 $\mu$  para el grosor de la testa y para el grosor de la capa de macroesclereidas se encontró un rango de 37.58 $\mu$  a 39.83 $\mu$ .

Para la medida de los cotiledones éstos varían dependiendo de la parte donde se haya realizado el corte y de la profundidad si es en la superficie, en la parte media y en la parte interna.

En el presente trabajo las células de los cotiledones variaron en longitud en un rango de 79 $\mu$  a 126 $\mu$  y de 67 a 89 $\mu$  de ancho y en Marco Vinicio de 85 a 154 $\mu$  de longitud y de ancho de 50 a 99 $\mu$ . En lo reportado por Powieri et al. (1960) citan valores que van en los rangos de 32-175 $\mu$  de largo y de 28-149 $\mu$  de ancho para las células de los cotiledones.

Los granulos de almidón en el presente estudio estuvieron en los rangos de 23 $\mu$  a 30 $\mu$  de longitud y de 18 a 30 $\mu$  de ancho para la variedad Selección 4 y para la variedad Marco Vinicio de 20 a 30 $\mu$  de longitud y 20 a 25 $\mu$  de ancho. Por otro lado Hughes y Swanson (1985) reportan valores de 10 a 50 $\mu$ ; Moreno et al. (1994) de 2.9 $\mu$  a 25.8 $\mu$  de diámetro; Reyes-Moreno y Paredes-López (1993) de 2 a 18 $\mu$  y Cortella y Pochettino (1994) valores de 3-22 $\mu$  de diámetro.

## Parámetros físico-químicos

### Análisis bromatológico

En el Cuadro 10 y las Figuras 3 y 4 se muestran los resultados del análisis bromatológico realizado en las semillas de Marco Vinicio y Selección 4 a los 0, 6 y 12 meses. En la figura 10 se puede apreciar la harina de cada una de las variedades.

De los resultados obtenidos por estos análisis fue evidente que algunos componentes bromatológicos, tales como la humedad, ceniza y grasa disminuyeron su valor porcentual con el tiempo de almacenamiento (Figuras 3 y 4) esta disminución fue estadísticamente evidente ( $P < 0.01$ ) (Cuadros 11, 12 y 13), aunque para el caso de la grasa, estábamos con un aumento en porcentaje en la fase intermedia (Figuras 3 y 4), pero en la etapa final disminuyó por debajo de su valor inicial en ambas variedades ( $P < 0.01$ ) (Cuadros 11 y 12). Sobre estos resultados se puede inferir que con respecto al contenido de humedad en las diferentes variedades de granos varía de acuerdo al tipo de grano, composición química, humedad de almacenamiento tiempo de cosecha, métodos de almacenamiento, humedad relativa de la atmósfera y fluctuaciones estacionales (Kadam et al. 1989). En el caso específico de las dos variedades, la humedad pudo haber estado influenciada por el manejo de almacenamiento y las temporadas en que se realizó el experimento (0, 6 y 12 meses), ya que las variedades estuvieron expuestas a la humedad relativa y a las fluctuaciones estacionales, en donde la temperatura y humedad relativa oscilaron de 15°C en Diciembre y 28°C para los meses de Mayo-Junio y 67 y 69% para el mes de Diciembre, 68 y 70% para Mayo-Junio, respectivamente. Los resultados de humedad de las 2 variedades presentaron un rango de 8 a 10.79%, Matthews (1989) reporta rangos de 9 a 12% en diferentes variedades de frijol, por su parte Muñoz-Chávez et al. (1996) citan un rango de 1.40 a 12.02% de humedad en diversas variedades de frijol que se consumen en México.

En lo que refiere al contenido de grasa de las variedades en estudio se observó disminución a los 0 y 12 meses y un ligero incremento a los 6 meses (Cuadro 10, Figuras 3 y 4). Para las variedades estudiadas se obtuvieron valores para grasa entre 1 y 2.19%, lo cual concuerda con lo mencionado por Patte et al. (1982), los cuales mencionan que el frijol común contiene de 1 a 3% de lípidos dependiendo de la especie. Cubero y Moreno (1983)

mencionan que el contenido de grasas en las leguminosas es bajo en general, entre 1 y 2%, siendo superior en el garbanzo y guanzú que contienen entre el 4 y el 6%, excepto en el cacahuete en donde el contenido de grasa es de 43.3% y en la soya de 18%, dos importantes oleaginosas que pertenecen a esta familia. Matthews (1989) reporta un rango para diferentes variedades de frijol de 1.1 a 1.5% de grasa. Por su parte Muñoz-Chávez et al. (1996) dan un rango para grasa de 1.50-2.70% en algunas variedades de frijol que se consumen en México.

Algunos investigadores mencionan que el contenido total de lípidos puede variar dependiendo de la variedad, especie, origen, localidad, clima, condiciones ambientales y tipo de suelo en el cual este creciendo (Worthington et al. 1972). En general los ácidos grasos saturados incrementan y los ácidos grasos insaturados disminuyen. El más grande incremento fue encontrado C4:00 y el más grande decremento en C18:3 (Richardson y Stanley, 1991). por otro lado Morris y Wood (1956) indican que la degradación de lípidos (hidrolítica u oxidativa) ocurren en frijoles almacenados a alta temperatura y humedad, esas condiciones ambientales hacen que los frijoles no cocinados (Morris y Wood, 1956; Richardson y Stanley, 1991) demuestran un decline de ácidos insaturados cuando las semillas de frijol común fueron sujetos a cambios acelerados de envejecimiento. La composición de lípidos cambian significativamente como una función de las condiciones de almacenamiento.

Por otra parte Stanley (1991) menciona que la oxidación de lípidos y/o polimerización y deterioro de la membrana está correlacionada con el envejecimiento de las semillas y su endurecimiento. Esto también es mencionado por Varriano-Marston y Jackson (1981) los cuales sugieren que la pérdida de la integridad de la membrana observada en el frijol común puede ser relacionada por el incremento en la peroxidación dentro del citoplasma y Stewart y Bewly (1980) relacionan la pérdida de viabilidad de la semilla y semillas envejecidas de soya por peroxidación de lípidos.

En lo que se refiere a la ceniza hubo una disminución en las dos variedades a los 0, 6 y 12 meses, pero significativamente sólo a los 0 y 12 meses. Esto puede ser debido a que algunos minerales sean quelados durante el envejecimiento de la semilla como el Ca y Mg al unirse a las pectinas de las paredes y formar pectatos de calcio y magnesio (Bernal-Lugo,

1987) y también que se pierdan por pérdida de integridad de la membrana al envejecer las semillas (Stanley, 1991). También las proteínas pueden formar complejos con los minerales (Bressani, 1975; Chang y Satterlee, 1982; Deshpande y Nielsen, 1987; Nielsen, 1991).

Mattson (1946 en Reyes-Moreno y Palacios-López, 1993) muestra que el ácido fítico es un poderoso quelador de Ca y Mg. Los fitatos en semillas oleaginosas afectan la biodisponibilidad de minerales traza Cu, Mn, Co y Mo.

Los valores de ceniza para las 2 variedades estuvieron en un rango de 3.91 a 5.37%, estos resultados concuerdan con los reportados para los frijoles secos en el diccionario de alimentos (1984); Cubero y Moreno (1983) citan de algunas leguminosas el contenido de ceniza, siendo en haba 3.7%, guisante liso 2.8%, guisante rugosos 3.2% y 4.7% para altramueces; Matthews (1989) reporta valores para diferentes variedades de frijol que van de 3 a 4%.

Por otra parte, el extracto libre de nitrógeno (carbohidratos) mostró en términos generales un incremento con el tiempo de almacenamiento. Estos resultados pueden ser explicados con base en que las semillas del frijol sus reservas están en los cotiledones y es la mayor cantidad de volumen de la semilla, aunque la influencia de la fracción de carbohidratos está dada por el almidón el cual es el constituyente mayor, otros carbohidratos o azúcares solubles como los mono-di y oligosacáridos se encuentran en cantidades aproximadas de 1%, 1.3% y 5-6%, respectivamente y la fibra cruda la constituyen aquellos carbohidratos que son insolubles como la celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas (Matthew, 1989).

Lo que puede estar ocurriendo en las semillas de las variedades es que la fibra cruda (celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas) de las paredes de las células aumenta al ir envejeciendo la semilla y eso provoque un aumento en la cantidad de carbohidratos durante esta etapa. También puede influir el tamaño de los frijoles al tomar la muestra para molerlos que unas sean más pequeñas que otras y que tengan menos almidón y carbohidratos solubles y que otras de mayor tamaño. También se pudiera pensar que la cantidad de fibra cruda presente sea mayor con el envejecimiento y el grosor de la cáscara de los granos sea mayor.

Los valores obtenidos para el extracto libre de nitrógeno (carbohidratos) entre las 2 variedades van de 55.35 hasta 60.80%, lo cual coincide con lo mencionado por Sathe et al. (1985), quienes mencionan que el mayor contenido de carbohidratos es de 50 a 60% del peso seco del frijol común y otros autores menciona un rango desde 35 a 60% del peso seco del frijol (Maza-Calviño, 1988; Rockland y Metzler, 1967, Rockland et al. 1977; Sosulski y Youngs, 1979). Cubero y Moreno (1983) citan que las semillas de leguminosas tienen alto contenido de carbohidratos, un 35% en altramuces, 60% para habas y guisantes rugosos y 67% para guisantes lisos. Por su parte Matthews (1989) reporta un rango de 61 a 65% para diferentes variedades de frijol. Muñoz-Chávez et al. (1996) en una investigación sobre variedades de frijol que se consumen en México reportan un rango de 52 a 68% de carbohidratos.

Por último para el contenido de proteína, está variable mostró un comportamiento ambiguo, ya que para la variedad Selección 4 se observó una disminución proporcional en la proteína, mientras que para la variedad Marco Vinicio al cabo de los 12 meses sólo se apreció una muy ligera disminución en los valores porcentuales (Figura 3 y 4), está disminución no fue estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ), tal como puede apreciarse en el Cuadro 11. Los resultados sobre la proteína considerando las 2 variedades fueron de 21 a 23.88% (entre las variedades), estos resultados están dentro del rango mencionado por Osborn (1988) el cual menciona que el % de proteína es muy variable en los cultivos de frijol común, variando en un rango de 16 a 33%; Meiners et al. (1976) citan un rango de 17.8 a 26.4%; Deshpande et al. (1984) reporta un rango de 18.1 a 23.4%; Koehler et al. (1987) el cual reportó un rango de 19.6 a 32.2% del contenido de proteína.

Osborn (1988) también cita que el porcentaje de proteína depende de la expresión genética, la cual controla síntesis y acumulación de la fracción proteica. Por su parte Matthews (1989) reporta un rango para diferentes variedades de 19 a 23% de proteína.

Cubero y Moreno (1983) reportan que el porcentaje medio de proteína en la semilla madura se sitúa en general entre el 20-25%, pocos ejemplos se conocen por debajo del 20%: yeros, guanzu y algunos frijoles afroasiáticos. Algunos más se conocen por arriba del 25%: los altramuces sobrepasan el 30% (el altramuz amarillo alcanza cifras superiores al 40%); la soya y el cacahuete, después de haber sufrido una extraordinaria labor de

selección supera el 35% el primero y el 25% el segundo, aún cuando la selección fue realizada para incrementar la proporción de grasa. Sin embargo, hay variedades de soya cuyos granos contienen hasta un 44% de proteína y en habas de un 20 a 30%.

Muñoz-Chávez et al. (1996) reportan para proteína un rango de 15 a 22.90% en variedades de frijol que se consumen en México.

### **Coefficiente de hidratación**

Las superficies hidrófilas (coloides como proteínas), absorben agua y la tendencia con lo que hacen no sólo depende de la naturaleza de la superficie, sino también de la distancia entre la superficie y las moléculas que se absorben. Las que están justo sobre la superficie absorbente serán retenidas con gran fuerza, las que se hallan a cierta distancia de la superficie lo serán menos; la absorción de agua por superficies hidrófilas se conoce como hidratación o imbibición (Salisbury y Ross, 1994).

En el Cuadro 14 se muestran los valores promedio y desviación estándar de las variables consideradas en la determinación del coeficiente de hidratación a los 0, 6 y 12 meses en ambas variedades.

Los resultados obtenidos al aplicar la prueba de "t" para comparar las variedades Marco Vinicio y Selección 4 en 3 diferentes tiempos se encontraron diferencias altamente significativas a la hora, 2 y 3 horas a los 6 y 12 meses y 4 horas a los 6 meses (Cuadro 15).

Por otro lado el coeficiente de hidratación a los 0, 6 y 12 meses en las 2 variedades va aumentando en forma gradual a la hora, 2, 3, 4 y 18 horas; pero para Selección 4 sólo hubo diferencias altamente significativas a los 0, 6 y 12 meses para las 2, 3 y 18 horas, mientras que para la variedad Marco Vinicio se encontraron altas diferencias significativas a la hora, 2, 3, 4 y 18 horas. Pudiendo mencionar que la que presenta más variación en el coeficiente de hidratación a los 0, 6 y 12 meses es Marco Vinicio y donde coinciden las dos variedades es a las 2 y 3 horas a los 0, 6 y 12 meses, donde hubo diferencias significativas para ambas variedades (Cuadros 16 y 17).

La imbibición no fue pareja a las diferentes horas (1, 2, 3, 4 y 18 horas) en las variedades por separado a los 0, 6 y 12 meses. Como tampoco lo fue comparando ambas variedades. Con estos resultados no se puede ver un patrón a ninguna hora en las tres

etapas. Solamente se puede apreciar que a las 4 horas las variedades presentaron una imbibición entre el 8 y 11% y a las 18 horas su máxima hidratación 100% a excepción de los 0 meses en la Selección 4 (Cuadro 14). Hincks et al. (1987) citan que si se realizan tiempos de remojo menores a 18 horas no hay evidencia clara de deficiencia de hidratación entre las semillas.

Deshpande et al. (1984) mencionan que la absorción de agua final de un cultivo de frijol fue significativamente correlacionada con su longitud y ancho, diámetro ( $r = 0.80$ ) eliminando cualquier influencia debido al volumen; ellos mencionan también que semillas delgadas y largas del frijol kidney tienen valores de absorción más altos de agua que cuando se comparan con pequeños tipos de semillas redondos. En nuestro caso sólo coincide el largo y el peso que fue mayor para Marco Vinicio y fue la que presentó mayores % de imbibición a las 18 horas en las tres etapas (0, 6 y 12 meses).

Moscoso et al. (1984) citan que la máxima cantidad de agua absorbida por los frijoles durante el remojo es afectada por el contenido de humedad inicial, y a la temperatura de almacenaje. Esto es explicado por Castellanos et al (1995), quienes mencionan que el contenido de humedad de las semillas es un factor importante que controla la tasa de entrada del agua. La disolución de la lámina media puede llevarse a cabo más rápido a niveles mayores de humedad inicial de la semilla.

En el caso de nuestras variedades (Marco Vinicio y Selección 4), Selección 4 presento el contenido inicial de agua (10.23%, 10.79% y 9.93%, a los 0, 6 y 12 meses), mayor fue la Marco Vinicio y fue la que absorbió la máxima cantidad a las 18 horas en las 3 etapas de los 0, 6 y 12 meses (101.3%, 115.68% y 113.88%) (Cuadro 14). La temperatura de almacenaje fue la misma para ambas variedades.

Castellanos et al (1995) hacen alusión que las semillas más brillantes absorbieron menos agua durante el remojo, esto coincide con los resultados obtenidos en nuestro estudio en donde la variedad Selección 4 fue la más brillante y absorbió menos agua al final de las 18 horas de remojo en las tres etapas (0, 6 y 12 meses).

Aunque la solubilidad va a depender del material intercelular que forma la lámina media, de la cantidad de calcio y magnesio que interaccionan con las sustancias pécticas (Godwin y Mercer, 1983 en Bernal-Lugo, 1987) o también la variación en la solubilidad de

si los cationes son quelados por el ácido fítico y/o las proteínas de reserva, ya sea porque los cationes se movilizan al interior del protoplasto o porque los quelantes (ácido fítico o proteínas) se movilizan hacia el exterior y al pasar por la pared celular interaccionan con iones divalentes y los arrastran consigo y aumenta de esa manera la solubilidad de la pectina (Bernal-Lugo, 1987).

La temperatura de almacenaje fue a temperatura ambiente y ésta osciló de 15°C en el mes de Diciembre a la máxima de 28°C en Mayo y Junio, la humedad relativa fue de 67 y 69% en Diciembre y la máxima de 68% y 70% en el mes de Mayo y Junio. Estas temperaturas y humedad relativa pueden estar entre las tropicales (85% humedad relativa y 30°C) y subtropicales (65%HR y 24°C), considerándose temperatura y humedad relativa propicias para el deterioro del frijol. Lo cual es mencionado por Hohlberg y Stanley (1987) quienes consideran a los climas tropicales (85% humedad relativa y 30°C), subtropicales (65%HR y 24°C) y templados (35% humedad relativa y 15 y 20°C), encontrando que la alta humedad y temperatura (clima tropical) el frijol inicia un proceso de deterioro a los 3 meses de estar almacenado, el tiempo de cocción del frijol almacenado por un año bajo estas condiciones fue tres veces más que en el control. Hentges et al. (1991) reportaron que durante el almacenaje (29°C y 65%HR) de semillas de frijol común eso muestra una disminución total en la proteína soluble (albúminas y globulinas). Este incremento en proteína insoluble puede contribuir al desarrollo del defecto de endurecimiento.

La condición media (25°C y 65%HR) y altas subtropicales (30°C y 85HR) se han reportado que producen defecto de endurecimiento (Antunes, 1979 en Hohlberg y Stanley, 1987). Carabez-Trejo et al. (1991) observaron en la semilla de frijol de mayo bajo condiciones de almacenamiento (33 a 35°C, 120 días, 76%HR) se promueve el desarrollo del defecto de endurecimiento, observando cambios en la compactación de las células de empalizada y apariencia del mesófilo. Los cambios ultraestructurales antes mencionados tienen una gran influencia en la textura, características del remojo y cualidades de cocinado del frijol común. El efecto de dureza de cocimiento se presentó en el grupo de alta temperatura y humedad (50°C y 85HR) y parcialmente en las muestras de temperatura media (25°C y 65HR) (Hohlberg y Stanley, 1987).

Castellanos (1995) encontró que el grosor de la testa mostró una correlación negativa significativa ( $r = -0.38$ ) con la absorción de agua (18 horas). Por otro lado Stanley et al. (1990) mencionan que la cantidad de agua absorbida por el frijol común después del almacenamiento estuvo relacionada al color del cultivo, volumen de la semilla y área del hilio, pero no con el grosor de la cubierta del frijol; en nuestras variedades de estudio de Marco Vinicio tuvo el grosor mas alto en las 3 etapas a los 0, 6 y 12 meses, pudiendo deberse a que tuvo el parénquima también más grueso debajo de las esclereidas y ahí permanecer parte del agua o también que la testa dura se ve afectada por bajos o altos niveles de humedad, ya que la testa dura es enmascarada parcialmente conforme el contenido de humedad de la semilla se incrementa lo cual es mencionado por Castellanos et al. (1993 en Castellanos, 1995). También ellos mencionan que hay genotipos que presentan testa dura y alto tiempo de cocción, pero que existen otras que sólo exhiben el alto tiempo de cocción sin tener testa dura.

Deshpande y Cheryan (1986) encontraron que el tamaño y forma de los frijoles, área superficial, grosor de las semillas y velocidad de gelatinización del almidón y la naturaleza, contenido de los constituyentes no almidonosos que actúan como una barrera física en la hidratación de los gránulos de almidón y que puede influir en la velocidad de imbibición de agua durante el cocinado menciona el grosor de la semilla. Para nuestro estudio el frijol que con mayor grosor en las 3 etapas (0, 6 y 12 meses) fue Selección 4 la que menos se embebió y el que más se tardó en cocer.

### Tiempo de Cocción

La cocción puede ser realizada a presión atmosférica y temperatura o a alta presión (autoclave). El principal propósito de la cocción es el desarrollo del aroma y de proporcionar frijoles tiernos. El agua de la cocción puede ser descartada, dependiendo de la cultura o preferencia personal. Generalmente el lavado precede al cocinado; la cocción de los frijoles puede producir algunos cambios en las cualidades físicas, bioquímicas y nutricionales. Además el tiempo de cocción prolongado pueden reducir las cualidades nutritivas del frijol (Bressani et al. 1963).

Los resultados obtenidos para la cocción en las 2 variedades de frijol estudiadas, denotando que en la variedad Selección 4 el 90% de los frijoles se cocinaron en un tiempo de una hora con 40 minutos (100 minutos) a los 0 y 6 meses y a los 120 minutos para el tercer período (12 meses). Por otro lado la variedad Marco Vinicio se coció a los 60 minutos a los 0 y 6 meses y 80 minutos a los 12 meses, concluyendo que la Selección 4 resultó ser la más dura para cocerse (Cuadro 18 y Figura 6).

Las dos variedades (Selección 4 y Marco Vinicio) por separado tuvieron una diferencia altamente significativa a los 40 y 60 minutos. Entre las dos variedades hubo diferencias significativas a los 0 meses a los 40 minutos y a los 60 minutos y a los 12 meses a los 20 minutos a los 40 y a los 80 minutos (Cuadros 19, 20 y 21).

Con los resultados obtenidos se puede observar que tanto la Selección 4 y Marco Vinicio varían en la cantidad de frijoles cocidos sobre todo a los 40 y 60 minutos, pudiéndose observar que la cantidad de frijoles cocidos en esos tiempos va bajando en cantidad de los 0 meses a los 12 meses en ambas variedades y también que Marco Vinicio tiene mayor porcentaje de cocimiento a los 0 y 6 meses a los 40 y 60 minutos, ya que a los 12 meses solamente a los 60 minutos, cocinándose el 90% a los 60 minutos a los 0 y 6 meses y completando los 90 a los 80 minutos a los 12 meses. En cambio para Selección 4 tuvo dos períodos más de 80 y 100 minutos a los 0 y 6 meses y uno más de 120 minutos a los 12 meses. Se puede observar que también bajan el número de frijoles cocidos en orden descendente de los 0, 6 y 12 meses (Cuadro 18).

Los resultados de la cocción se pudieran explicar con las siguientes discusiones. Desde el punto de vista de la relación que existen entre las características físicas y la cocción. El-Tabey Shetty y M. Myoussef (1978) encontraron una correlación positiva con el color claro en la cutícula, el peso de 100 semillas y el coeficiente de hidratación con la cocción de las habas. Esto coincide con los resultados obtenidos en nuestras evaluaciones, ya que la semilla que presentó color claro fue Marco Vinicio y fue la que se coció más rápido a los 0, 6 y 12 meses, siendo a los 0 y 6 meses a los 60 minutos y Selección 4 a los 100 minutos, a los 12 meses Marco Vinicio a los 80 minutos y Selección 4 a los 120 minutos (Cuadro 18 y Figura 6).

Los factores anatómicos que se pueden considerar serían el grosor de la testa que en el presente estudio fue más gruesa en la variedad Marco Vinicio y que de acuerdo a Castellanos et al. (1993 en Castellanos, 1995) debe existir una correlación positiva ( $r = 0.67$ ) entre el grosor de la testa y tiempo de cocción. Sin embargo esta variedad de coció en menos tiempo no concordando con lo encontrado por este autor. Stanley et al. (1990) encontraron que la cantidad de agua absorbida por el frijol común después del almacenamiento fue relacionado al color del cultivo, al volumen de la semilla, área del hilum, pero no al grosor de la cubierta del frijol. Otros investigadores (Cárabez-Trejo et al. 1991; De León et al. 1989; Baver-Staoh y Niebes, 1976) sugieren que la cubierta de la semilla y el cotiledón juegan un papel importante en el desarrollo de la condición de endurecimiento a cambio ocurridos más bien en el cotiledón que a las reacciones llevadas fuera de la cubierta de la semilla. También Jackson y Varriano (1981) observaron que durante el almacenamiento cambios biofísicos y bioquímicos ocurren en la cubierta de la semilla y el cotiledón, mencionan además que la cubierta de la semilla contribuye a incrementar los tiempos de cocción más que el cotiledón en el frijol fresco de un 40 a 60%, pero la contribución de cotiledón, para el tiempo de cocción se incrementó a un máximo de 60% durante el almacenamiento.

La condición a la que estuvieron las muestras no fue controlada. Estuvieron al medio ambiente y expuestas a los cambios teniendo temperaturas medias desde 15°C hasta 28°C en los meses más cálidos y una humedad relativa que fluctuó desde 50% hasta 70% en los meses más cálidos. Antunes (1970 en Hohberg y Stanley, 1987) menciona que la condición media (25°C y 65%HR) y la alta (30°C y 85HR) se reportan que producen defecto de endurecimiento. Burr y Morris (1968 en Bernal-Lugo, 1987) mencionan que los factores que se han relacionado con el endurecimiento del frijol durante el almacenamiento son humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento.

Otro factor que pudo estar influyendo en las variedades fue el contenido de humedad inicial en el frijol, lo cual lo mencionan (Antunes y Sgarbieri, 1979; Burr et al. 1986, Hughes y Swanson, 1985) como un factor que influye en la cocción. Jackson y Varriano-Marston (1981) citan que el tiempo de cocción es inversamente proporcional al contenido de humedad. Castellanos et al. (1993 en Castellanos, 1995) mencionan que

cuando la absorción es alta, ya sea inducida natural o artificialmente, el tiempo de cocción es disminuido. Ellos también citan que hay un genotipo como el bayo victoria que exhibe problemas de testa dura y alto tiempo de cocción, pero que también existen genotipos que solamente tienen el problema de alto tiempo de cocción. Por otro lado, mencionan que los genotipos bayo victoria y Querétaro presentan el problema de testa dura a bajos niveles de humedad, pero la testa dura fue enmascarada parcialmente conforme el contenido de humedad de la semilla se incrementó. Castellanos et al. (1995) cita que el contenido inicial de humedad de la semilla es un factor importante que controla la tasa de entrada de agua. La disolución de la lámina media puede llevarse a cabo más rápido a niveles mayores de humedad inicial de la semilla. Esto pudo haber ocurrido en nuestras muestras, ya que Marco Vinicio tenía los porcentajes de humedad inicial más altos en las tres etapas que Selección 4 y fue precisamente Marco Vinicio la variedad que se cocinó en menor tiempo.

Jackson y Varrault (1981) mencionan que en general a mayor contenido de humedad después del remojo menor tiempo de cocción. Moscoso et al. (1984) cita que la menor cantidad de agua absorbida por los frijoles durante el remojo es afectada por el contenido de humedad inicial. Esto concuerda con nuestros resultados donde el mayor porcentaje de absorción después de las 18 horas lo obtuvo Marco Vinicio en las tres etapas (0, 6 y 12 meses) siendo de 101.30%, 115.68% y 113.88% contrario a la Selección 4 cuyos valores son 87.91%, 115.41% y 111.30%.

Otro factor que puede influir en la cocción es el contenido de calcio (Ca) y magnesio (Mg) al formar peclatos con la lámina media, por su parte Bhatti (1984) obtuvo una correlación significativa entre las cualidades de cocción, Ca, Mg y P sugiriendo algún papel de esos alimentos minerales en las cualidades de cocción lenta. En nuestras variedades la Selección 4 presentó en la mayoría de los casos las cantidades más altas de estos minerales (Ca y Mg) tanto en testa como en cotiledón en las tres etapas, a excepción de los 0 meses en cotiledón, 12 meses en testa tanto para Ca y Mg que lo presentó Selección 4.

Por su parte You eff et al. (1982) en su estudio demostró que el fenómeno de alto tiempo de cocción fue controlado por ambas características, cubierta de la semilla y cotiledón y no sólo por el problema de testa dura.

### Contenido de minerales

Los valores de los minerales fueron obtenidos en ppm (partes por millón) tanto para la testa como para cotiledón, siendo los resultados los siguientes para las 2 variedades (Cuadro 22 y Figura 7):

**Magnesio:** Selección 4 para testa 1146.58 y cotiledón 704.89, 1065.18 (testa) y 728.66 (cotiledón) y 356.99 (testa) y 753.71 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 997.36 (testa), 827.60 (cotiledón), 960.89 (testa), 707.03 (cotiledón) y 933.35 (testa), 490.53 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Sodio:** Selección 4 para testa 1516.18 y cotiledón 232700, 2055.12 (testa) y 3066.38 (cotiledón) y 681.74 (testa) y 231.57 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 1623.15 (testa), 3111.20 (cotiledón), 1431.82 (testa), 2919.04 (cotiledón) y 351.46 (testa), 126.72 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Potasio:** Selección 4 para testa 4212.24 y cotiledón 15665.74, 3026.40 (testa) y 15683.00 (cotiledón) y 8553.22 (testa) y 9313.43 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 4633.78 (testa), 17682.18 (cotiledón), 7797.72 (testa), 14858.29 (cotiledón) y 6753.33 (testa), 15653.17 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Calcio:** Selección 4 para testa 953.91 y cotiledón 873.49, 948.35 (testa) y 920.66 (cotiledón) y 351.96 (testa) y 551.56 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 952.14 (testa), 946.43 (cotiledón), 943.92 (testa), 910.68 (cotiledón) y 5067.04 (testa), 238.16 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Manganeso:** Selección 4 para testa 0.06 y cotiledón 11.37, 5.31 (testa) y 12.93 (cotiledón) y 11.19 (testa) y 6.46 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 7.12 (testa), 16.37 (cotiledón), 10.09 (testa), 16.60 (cotiledón) y 1.07 (testa), 16.14 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Hierro:** Selección 4 para testa 83.84 y cotiledón 35.59, 99.27 (testa) y 87.61 (cotiledón) y 82.64 (testa) y 19.80 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 47.62 (testa), 78.41 (cotiledón), 75.82 (testa), 88.84 (cotiledón) y 41.43 (testa), 22.15 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Cobre:** Selección 4 para testa 18.93 y cotiledón 14.51, 13.58 (testa) y 14.15 (cotiledón) y 1.58 (testa) y 8.50 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 12.78 (testa), 15.47 (cotiledón), 19.82 (testa), 12.59 (cotiledón) y 11.91 (testa), 9.49 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

**Zinc:** Selección 4 para testa 49.00 y cotiledón 86.78, 51.24 (testa) y 461.62 (cotiledón) y 24.61 (testa) y 23.62 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses y para Marco Vinicio 39.97 (testa), 262.39 (cotiledón), 269.94 (testa), 123.78 (cotiledón) y 49.97 (testa), 27.73 (cotiledón) para los 0, 6 y 12 meses.

En lo que refiere a estadística, se presentaron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) para todos los minerales estudiados (magnesio, sodio, potasio, calcio, manganeso, hierro, cobre y zinc) tanto para la testa como para el cotiledón para las 2 variedades a los 0, 6 y 12 meses y entre las variedades hubo diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) en los minerales (magnesio, sodio, potasio, manganeso, hierro, cobre y zinc), para el calcio solo se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para la testa a los 0 meses para los demás hubo diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ) a los 0, 6 y 12 meses. Los grupos de homogeneidad que se formaron fueron 3 grupos para testa y cotiledón tanto para la Selección 4 y para Marco Vinicio (uno a los 0, otro a los 6 y el tercero a los 12 meses) en la mayoría e excepción del potasio y calcio donde se formaron 2 grupos (uno a los 0 y 6 meses y el otro a los 12 meses para el cotiledón en la Selección 4) y para la testa en Marco Vinicio para el manganeso donde se formó 1 grupo a los 0 meses y otro a los 12 meses (Cuadro 23).

El manganeso fue más alto en cotiledones en Selección 4 y más alto en la testa a los 12 meses. La variedad Marco Vinicio fue más alta para el cotiledón a los 0, 6 y 12 meses. El hierro fue más alto en la testa para los 0, 6 y 12 meses en la Selección 4 y para Marco Vinicio el cotiledón fue el más alto a los 0 y 6 meses y más alto en la testa a los 12 meses.

El cobre fue más alto en la testa a los 0 meses pero más alto en el cotiledón a los 6 y 12 meses y para Marco Vinicio fue más alto en el cotiledón a los 0 meses y más alto en la testa a los 6 y 12 meses. El zinc fue más alto en el cotiledón a los 0 y 6 meses y ligeramente más alto a los 12 meses para Selección 4 y para marco Vinicio fue alto en el cotiledón a los 0 meses y a los 6 y 12 meses más alto en la testa. Para los minerales de Mg, Na, K, Ca, Mn, Fe, Cu y Zn hubo altas diferencias significativas ( $P \leq 0.01$ ) tanto para testa y cotiledón para las 2 variedades y

entre las variedades para todos hubo diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) a excepción del Ca en la testa a los 0 meses (Cuadro 24).

Los grupos de similitud tanto para testa y cotiledón en las 2 variedades son 3 grupos a los 0, 6 y 12 meses a excepción del cotiledón para el K y Ca en la Selección 4 donde para el K fueron 2 grupos a los 0 y 6 meses y otro a los 12 meses y para el calcio igual 2 grupos 1 formado por 0 y 6 meses y el otro a los 12 meses (Cuadro 25).