

**Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas Y Farmacia**

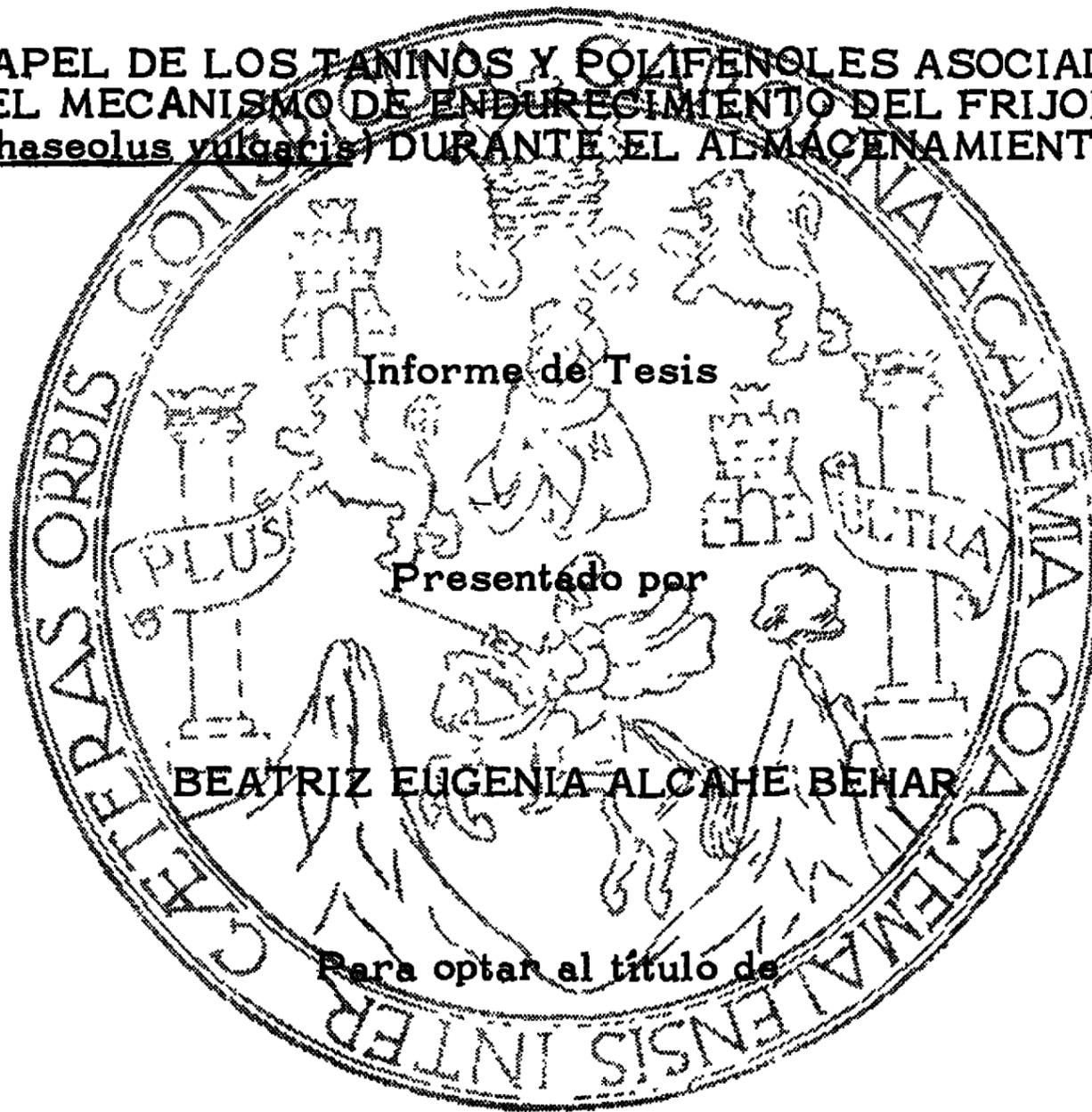


BEATRIZ EUGENIA ALCAHE BEHAR

Guatemala, Julio de 1981

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

EL PAPEL DE LOS TANINOS Y POLIFENOLAS ASOCIADOS,
SOBRE EL MECANISMO DE ENDURECIMIENTO DEL FRIJOL COMUN
(*Phaseolus vulgaris*) DURANTE EL ALMACENAMIENTO



QUIMICO BIOLOGO

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO: Lic. Leonel Carrillo Reeves.
SECRETARIO: Lic. Carlos Augusto Posadas Vásquez
VOCAL 1o.: Dr. José Héctor Aguilar Arreola
VOCAL 2o.: Lic. Enrique Blanco Salguero Q.E.P.D.
VOCAL 3o.: Lic. Justo Comas Fuxet
VOCAL 4o.: Br. Guido Vinicio Arreola Smith
VOCAL 5o.: Br. Erick Estuardo Juárez Vargas

MI AGRADECIMIENTO

A los Dres. Luiz G. Elías, J. Edgar Braham y Ricardo Bressani, por su asesoría.

Al Dr. Oscar Pineda por su valiosa colaboración.

A la Ingeniera E. de Mejía, por su asesoría en el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Mario R. Molina por su valiosa ayuda, y en general a la División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del INCAP y a todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo.

DEDICO ESTA TESIS

A MIS ABUELOS

Rafael Behar

a la memoria de:

**Eugenia M. de Behar
Alegrina O. de Alcah e
Roberto Alcah e**

A MIS PADRES

**Lic. Isaac Alcah e O.
Clara Behar de Alcah e**

A MIS HERMANOS

**Miriam Edith
Jaime Rafael**

A MIS TIOS

A MIS PRIMOS

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

**A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.**

DEDICO ESTE ACTO

A la Familia Alcahí Mizrahi

A la Familia Sofer Behar

A la Familia Behar Pollastro

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá INCAP

**A mis Amigos y Compañeros de Promoción de la Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos
de Guatemala.**

EL PAPEL DE LOS TANINOS Y POLIFENOLES ASOCIADOS,
SOBRE EL MECANISMO DE ENDURECIMIENTO DEL FRIJOL
COMUN (Phaseolus vulgaris) DURANTE EL ALMACENAMIENTO.

INDICE

	Pag.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
IV. JUSTIFICACIONES	13
V. OBJETIVOS	15
VI. HIPOTESIS	17
VII. ASPECTOS METODOLOGICOS	19
VIII. RESULTADOS	21
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	27
X. CONCLUSIONES	31
XI. RECOMENDACIONES	33
XII. REFERENCIAS	35
XIII. ANEXOS	43

I. RESUMEN

A pesar de que el frijol común (Phaseolus vulgaris) es uno de los alimentos básicos de la mayoría de la población centroamericana, su disponibilidad no satisface las necesidades actuales. Esto se debe no sólo a los problemas agronómicos de producción sino también, en parte, a las condiciones inadecuadas de almacenamiento a que se somete este grano después de la cosecha. Con respecto a esto último, alteraciones en sus características físicas y químicas dan como resultado el endurecimiento de la semilla. Aunque se conocen bastante bien las condiciones de almacenamiento que favorecen el endurecimiento del frijol, se sabe muy poco aún sobre los mecanismos de dicho fenómeno.

El presente estudio se realizó con el propósito de establecer el papel de los taninos y los polifenoles asociados en el proceso de endurecimiento del frijol. Para tal fin se utilizaron dos variedades de frijol común (Phaseolus vulgaris), negro y rojo

Los frijoles fueron almacenados por períodos de 2, 4 y 6 meses. La humedad de los granos de frijol para ambas variedades y períodos de almacenamiento fue de 9, 13 y 17%, en equilibrio con humedad ambiental relativa de 40, 60 y 80%, respectivamente. Las temperaturas usadas para cada humedad fueron de 4, 20 y 36°C. Los frijoles se colocaron en bolsas de tela, y éstas adentro de frascos de vidrio. Los frascos fueron colocados en forma seriada en atmósfera de CO₂ y aire. Se tomaron muestras de frijol de cada uno de los tratamientos anteriores, se molieron y almacenaron a 4°C. En cada muestra de frijol se determinaron las concentraciones de catequina, proteína y la actividad de la polifenoloxidasas. Se analizó el efecto de las distintas condiciones de almacenamiento sobre estos parámetros bioquímicos. Posteriormente estos mismos parámetros se correlacionaron con cambios físicos (dureza, tiempo de cocción y coeficiente de absorción de agua); y finalmente, se evaluaron los resultados en función del proceso de endurecimiento de la semilla.

Los resultados indican de una manera general que el contenido de catequina disminuyó y la actividad de la polifenoloxidasas aumentó durante el período de almacenamiento estudiado. Estos cambios fueron favorecidos por un mayor contenido de humedad de la semilla y por una mayor temperatura de almacenamiento, condiciones que también favorecieron el aumento en la dureza y en el tiempo de cocción de las semillas. También se encontraron algunas diferencias en el patrón de respuesta a las distintas condiciones de almacenamiento entre el frijol negro y el rojo, hecho que posiblemente sea consecuencia de la naturaleza distinta de los pigmentos presentes en las variedades estudiadas. El frijol de color rojo mostró un mayor contenido de catequina y mayor actividad de la polifenoloxidasas. Los análisis de regresión múltiple mostraron relación significativa entre la disminución de la catequina con el incremento en el tiempo de cocción.

Con base a los resultados obtenidos, se postula la posibilidad de que los polifenoles estén involucrados en el proceso de endurecimiento del frijol, a través de un mecanismo enzimático en el que participa la polifenoloxidasas.

Dicha acción enzimática posiblemente se traduce en la polimerización de los polifenoles presentes en la testa del frijol, afectando así de una manera adversa la capacidad de absorción de agua por parte de la semilla, contribuyendo a aumentar el tiempo requerido para suavisar la semilla durante la cocción.

II. INTRODUCCION

El frijol es uno de los alimentos más consumidos en nuestro medio. Sin embargo, su disponibilidad es baja, debido, entre otras causas a la falta de aplicación de tecnología agrícola adecuada, y a su precio relativamente bajo en el mercado. Esto último, lo hace un cultivo poco atractivo para el agricultor en gran escala. A lo anterior, se suma la falta de tecnología adecuada para el almacenamiento, y el desconocimiento de ciertos factores que provocan el deterioro del grano.

En el deterioro del frijol durante el almacenamiento pueden intervenir factores tales como la humedad, la temperatura, la aireación y la infestación del grano por insectos y microorganismos. Uno de los cambios que se operan en el frijol almacenado es el endurecimiento del grano. Esto en términos prácticos se traduce en aumento del tiempo de cocción y, posiblemente, en efectos adversos en el sabor y el valor nutritivo de la semilla. Esto, puede determinar el rechazo de este producto por el consumidor.

El fenómeno del endurecimiento del frijol ha sido enfocado desde diversos ángulos. Unos de los cuales ha sido el estudio de los factores intrínsecos del grano que propician este efecto. A este respecto, varios autores (22,62, 63) han tratado de correlacionar la dureza del grano con ciertos procesos bioquímicos que se desencadenan bajo determinadas condiciones ambientales.

El propósito del presente trabajo es estudiar la posible relación entre el contenido de taninos y polifenoles asociados con el endurecimiento del frijol, en granos almacenados bajo diferentes condiciones ambientales.

III. ANTECEDENTES

1. Generalidades

La palabra leguminosa se deriva del latín "legere" que significa recoger, quizá debido a que se acostumbraba recoger a mano los frutos de estas plantas.

Las leguminosas se caracterizan por varios rasgos morfológicos importante:

- a. La semilla se halla contenida en un fruto característico llamado legumbre;
- b. las hojas son de color verde oscuro, y se dividen generalmente en varios folíolos;
- c. las raíces tienen nódulos que encierran bacterias específicas que desempeñan un papel singular y vital en la nutrición de la planta; y
- d. las flores varían en cuanto a forma, tamaño y vistosidad.

El género Phaseolus es un género muy amplio con unas 200 especies, la mayoría de las cuales son yerbas anuales o perennes, erectas o volubles, originarias de China, India Central y América del Sur. Generalmente están limitadas a los países cálidos y tropicales, pero hay excepciones. La mayoría de las especies se cultivan por sus semillas y vainas comestibles, pero también tienen importancia como forraje o para mejorar la calidad del suelo (78).

Las leguminosas han constituido desde hace mucho tiempo una fuente importante de proteína en las dietas de muchas regiones del mundo, especialmente en aquéllas donde las proteínas de origen animal son escasas. Los indios americanos han cultivado el frijol entre las plantas de maíz desde épocas remotas.

En Latinoamérica, con excepción de Argentina y Uruguay, la leguminosa más aceptada es el frijol común (Phaseolus vulgaris) en un gran número de variedades (15, 24, 52).

En Guatemala se ha comprobado que niños menores de 2 años de edad ya toman caldo de frijol en biberón, lo que significa que desde temprana edad esta leguminosa es considerada como alimento básico (16). A medida que disminuye el consumo de caldo con la edad, el consumo de frijol cocido aumenta (31, 32).

Una causa determinante para el consumo de frijol es el nivel socioeconómico de la población. El frijol es una fuente importante de proteína especialmente para las familias de ingreso medio y bajo que no pueden comprar o producir proteína animal (24). Sin embargo, es interesante mencionar que en estudios realizados en Guatemala, se encontró que la población de estado socio-económico alto si bien consume mayor cantidad de carne, mantiene su consumo de frijol esencialmente constante. Asimismo, estudios realizados para Centroamérica demuestran que en casi todos los países, el consumo de

esta leguminosa es mayor en el área rural que en la urbana (46).

2. Composición Química

La estructura anatómica de un grano de frijol consiste de cubierta o testa (7.7%), cotiledones (90.5%) y eje embrionario (1.8%). El cotiledón, que constituye el componente de mayor peso del frijol, es donde se encuentra la porción mayor de proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales como hierro y fósforo (73, 82, 92); también contiene calcio aunque la proporción de éste es baja (15).

Según Bressani y col. (12) los carbohidratos solubles representan el 61.4% y la fibra cruda el 6.6% en base seca. Eichelberger (23), Paterson y Churchill (72), encontraron que el frijol contiene 35.2% de almidón. En cuanto al contenido lipídico es, en general, bajo en todas las leguminosas con excepción de la soya y el maní, obteniéndose una variación de 1 a 6% de su composición total (35).

Según investigaciones de varios autores, el contenido vitamínico es rico en complejo "B", siendo una fuente importante de tiamina, riboflavina y niacina (15, 21, 48, 52).

Entre los aminoácidos esenciales, el contenido de leucina y triptofano es bajo, y con marcada deficiencia en metionina (13, 15, 47, 52). En algunas investigaciones realizadas en países latinoamericanos, se ha determinado que existen importantes variaciones en cuanto al contenido de proteínas y aminoácidos en variedades de la misma especie de frijol (48, 52). A este respecto, Bressani (13) utilizando 129 variedades de frijol, informó que el contenido de metionina oscila entre 0.080 y 0.356 g/100 g de muestra y la cistina acusa valores de 0.075 a 0.210 g/100g de muestra, mientras que la lisina varía entre 0.800 y 2.39 g/100g de muestra.

3. Factores Antifisiológicos

A pesar del valor nutritivo relativamente bueno que sugiera su composición química, la calidad nutricional del frijol es afectada por la presencia de: a) Factores antinutricionales que inciden negativamente en la digestibilidad de sus proteínas; b) La escasez de aminoácidos azufrados en sus proteínas y c) La poca disponibilidad de metionina, que es 50% más baja que en otras leguminosas, y determina la baja utilización proteínica (28, 85).

Se ha encontrado un gran número de factores tóxicos en las leguminosas, entre los cuales pueden mencionarse los siguientes: inhibidores de tripsina, fitohemaglutininas, factores látiricos, factores que causan favismo, saponinas, taninos y polifenoles asociados, factores que causantes de flatulencia y síntomas hipocolesterolémicos (15, 57).

Bowman (10), y Wagner y Riehm (88), concuerdan que el bajo valor nutritivo de muchas leguminosas crudas se debe a los inhibidores de tripsina. Aunque sólo aislaron parcialmente el inhibidor, determinaron que dicha fracción es la responsable de aproximadamente el 90% de las propiedades inhibitorias de la semilla. Kunitz (54, 55), descubrió que las proteínas responsables de la actividad antitriptica en la soya cruda, son termolábiles. Inhibido

res tripticos aislados de otras leguminosas muestran bastante similitud, aunque existen ciertas diferencias compararlos con los de otras especies (54, 88).

Las fitohemaglutininas llamadas también lectinas (11), son sustancias de naturaleza proteínica y de acción aglutinante frente a los eritrocitos de diferentes animales. Su efecto sobre la utilización de la proteína ha quedado demostrada en animales de experimentación (49, 50).

Elías y col (14), y otros autores (29, 57), han demostrado que la actividad hemaglutinante presente en tres variedades de Phaseolus vulgaris, está localizada en el endospermo y es destruida por cocción a 121°C y a 16 libras de presión, durante 20 minutos.

El efecto biogénico es causado por bloqueo en la reabsorción de la tiroxina excretada en la bilis (6). Se ha informado de casos de bocio en niños que eran alimentados con leche de soya (6).

Los glucósidos cianogénicos, compuestos antifisiológicos que se encuentran presentes en las leguminosas, también son destruidos durante el proceso de calentamiento (49).

El fenómeno de flatulencia debido a la ingestión de frijoles, es un proceso bien conocido que ha recibido mucha atención en los últimos años. Los compuestos que provocan esta reacción fisiológica no son destruidas durante el proceso de cocción, y son los causantes de que la mayoría de personas limiten el consumo de este alimento (14). Se cree que la causa de flatulencia es causada por la producción de gas por bacterias gram positivas anaerobias esporuladas del intestino (principalmente Clostridium perfringens) al ser estimuladas por factores desconocidos que hay en el frijol seco. Estos factores pueden ser carbohidratos de bajo peso molecular, como estaquinoso y rafinosa (7, 43, 75, 84, 85).

Sin embargo, otros autores opinan que estos oligosacáridos no son los únicos responsables de la flatulencia, sino que también contribuyen a ello - ciertos compuestos indigeribles como celulosa, lignina y gemicelulosa (50).

Entre los metabolitos de las plantas superiores se encuentran los taninos. Estos son polifenoles de peso molecular entre 500 y 3000 cuya habilidad para formar complejos y precipitar proteínas es no sólo de importancia en el metabolismo de las plantas superiores, sino en muchos aspectos de la tecnología de alimentos (39).

Mediante estudios químicos se ha demostrado que los taninos de las plantas son complejos polímero-fenólicos, que contienen grupos alifáticos y grupos carboxílicos (37, 40).

Los datos botánicos sobre la frecuencia de los taninos en las plantas es cuestionable, porque se basan en métodos no específicos de investigación. Su función exacta no es clara, aunque se les ha atribuido funciones tales como repeler predadores, tanto animales como microorganismos. Esta afirmación se basa en el hecho de que estos compuestos precipitan proteína de la saliva, por lo que se supone también inhibe las enzimas extracelulares de los parásitos, impidiendo así la invasión del tejido vegetal (37, 40).

Los taninos se dividen en dos clases:

- a. Taninos hidrolizables: compuestos fenólicos (ácido gálico) que pueden formar glicósidos con glucosa (4).
- b. Taninos no hidrolizables o condensados: forman leucoantocianinas cuando son tratados con ácido caliente. Estas leucoantocianinas son las responsables de la astringencia en frutas tales como uvas, bananos, peras, manzanas, etc. Estos son los que están más distribuidos en las plantas superiores, no poseen carbohidratos y usualmente son derivados de la condensación de precursoros flavonoides (4, 37).

La importancia del contenido de taninos radica en su efecto adverso sobre el crecimiento de animales, y en que limitan la utilización de la proteína así como de la energía metabolizable de los forrajes (4, 37, 61, 62).

González (38) observó en diferentes variedades de frijol que el contenido de taninos y polifenoles expresado como ácido tánico era alto en las variedades coloreadas y muy bajo en las incoloras. En realidad el contenido de polifenoles expresados como ácido tánico en unidades de polifenol varía según el color del frijol, así tenemos que en la testa el frijol blanco contiene 0.34 - 0.42%, el negro 0.57 - 1.15% y el rojo 0.95 - 1.29% (17).

Se ha informado que la distribución de polifenoles en las diferentes fracciones anatómicas de la semilla de frijol es la siguiente:

Color	% de ácido tánico		
	Semilla	Cotiledón	Testa
Testa	Completa		
Blanco	3.85	4.15	1.30
Negro	7.95	5.25	42.50
Rojo	9.30	5.00	38.00

Datos tomados de Bressani y Elías (17).

En estudios efectuados en humanos para determinar la forma en que los taninos y polifenoles afectan la digestibilidad de las proteínas, Hernández (44) encontró correlación negativa significativa entre la digestibilidad del nitrógeno proteínico y el contenido de taninos y polifenoles asociados en frijoles crudos. Asimismo, Linares y de Bosque (58) encontraron que el contenido de

taninos altera la digestibilidad proteínica en ratas.

Hernández (44) afirma que la mayor excreción fecal de catequina ocurre con la ingesta de frijol negro; y que para el frijol rojo comparando con el negro, se presenta mejor digestibilidad proteínica, y menor excreción fecal de nitrógeno.

Se han realizado varios estudios con el propósito de conocer los cambios que ocurren en el contenido de taninos y polifenoles durante la cocción del frijol. En líneas generales, los resultados muestran disminución del contenido de polifenoles en la semilla cocida y aumento de su concentración en el caldo de cocción (25).

Es necesario continuar las investigaciones en esta área ya que el efecto nutricional de la presencia de los polifenoles en las leguminosas depende, en gran parte, de la forma de consumo y de los procesos de preparación a que se someten los frijoles (25).

4. Almacenamiento de las Leguminosas

Por sus características físico-químicas, las leguminosas pueden ser consideradas como uno de los alimentos más estables, pero períodos relativamente largos de almacenamiento requieren ciertas precauciones técnicas para evitar cualquier efecto adverso en relación a su calidad para el procesamiento, valor nutritivo y propiedades culinarias y organolépticas. La falta de condiciones adecuadas de almacenamiento es uno de los problemas tecnológicos que han afectado la producción, y por ende, la disponibilidad de la semilla (24).

Elías y col. (24) y otros autores (18, 69) señalan como factores que afectan la conservación del frijol los siguientes:

1. Contenido de agua de la semilla.
2. Temperatura de almacenamiento.
3. Humedad relativa del ambiente.
4. Tiempo de almacenamiento.

Estos factores no sólo pueden alterar la estabilidad física del grano, sino también el biodeterioro provocado por el ataque de insectos, roedores y hongos.

A este respecto, Molina y col. (66) tomaron muestras de frijol negro y las dividieron en tres porciones: una fue autoclaveada a 121°C por dos minutos, la segunda se autoclaveó a 96°C por 10 minutos y la tercera no se autoclaveó. Se tomaron porciones y se almacenaron a dos temperaturas, 25° y 30°C; bajo dos condiciones de humedad relativa diferentes a 62 y 82%. De los frijoles no tratados almacenados a 25°C y 82% de humedad relativa a los 4 meses de almacenamiento, se encontró que a los 4 meses de almacenamiento el 5.9% estaba infestado con *Acantoscélides obtectus*; y en aquellos almacenados a 30°C y 62% de humedad relativa, el 6.6%. Los frijoles tratados también se infestaron; pero porcentajes insignificantes. Después de 4 meses, *Aspergillus flavus* infectó el 100% de los frijoles no tratados almacenados a 30°C y 82% de humedad relativa. Los autores concluyeron que el tratamiento

térmico tuvo efecto positivo disminuyendo el biodeterioro.

Weston y Morris (89), determinaron el equilibrio higroscópico de 7 variedades de frijol, almacenadas a 25° C y entre 11- 75% de humedad relativa. No fue posible obtener equilibrio a 80 - 98% de humedad relativa, por el desarrollo de mohos. Se encontró que a 98% de humedad relativa, el moho apareció a las 6 semanas, mientras que a 80% de humedad relativa este fenómeno se presentó después de 11 semanas.

El frijol almacenado en condiciones inadecuadas también experimenta cambios en textura, olor, color y sabor (9, 22, 37, 69, 86). Gloyser (37) indicó que temperaturas altas y humedades relativas bajas durante el almacenamiento, producen un efecto denominado "cáscara dura" del grano del frijol, - prolongando el tiempo necesario para su cocción. Bourne (9) observó que estos frijoles se inhiben menos que los normales, característica que permitirían la eliminación de los granos duros antes del proceso de cocción.

Existen características físicas y de tipo organoléptico y culinario que influyen en la aceptabilidad de las leguminosas por parte de las poblaciones. El conjunto de estas características se define como la calidad de cocción, o sea, el tiempo mínimo de cocción para suavisar las semillas, el espesor del caldo y las condiciones sanitarias normales (15).

Elías y col. (24), indican que el mayor tiempo de cocción de los frijoles debido a la variedad y/o a condiciones adversas de almacenamiento, constituye un problema no sólo para el ama de casa por el mayor gasto de combustible, sino también a nivel industrial, ya que los alimentos procesados tienen estandarizados sus parámetros de producción.

Otros estudios han demostrado que al disminuir la temperatura de 21° a 12.8° y 4.4° C e incrementar el período de almacenamiento, una humedad relativa igual o menor que 13% no altera significativamente el tiempo de cocción (18, 24).

Morris y Wood (69), han informado que el frijol con un contenido de humedad mayor de 13%, sufre cambios desfavorables en textura y sabor cuando se almacena por un período de 6 meses a 25°C.

En lo que se refiere a las características organolépticas, se ha encontrado que los frijoles con contenido de humedad superior a 10% desarrollan - olor y sabor desagradables, mientras que los almacenados con un grado de humedad inferior se conservan por dos años (24).

Takayama y col. (86), encontraron que un gran porcentaje de los lípidos del frijol son insaturados, y la acción de la lipoxidasa sobre éstos puede ser la causa del olor rancio del frijol almacenado. Según Munet. (70), estos lípidos pueden ser de importancia en los cambios de sabor en frijoles instantáneos o de cocción rápida, y también es posible que la oxidación y polimerización de éstos puedan causar cambios en la permeabilidad al agua, lo que - afecta el tiempo de cocción en el caso de la semilla entera.

Molina y col. (67), establecieron las interrelaciones entre el tiempo de remojo, tiempo de cocción y el valor nutritivo de las proteínas del frijol re-

cién cosechado y del frijol almacenado durante tres meses. Para el frijol recién cosechado y no sujeto a remojo el tiempo óptimo de cocción para obtener el mayor valor nutritivo fue de 10 minutos; mientras que para el frijol almacenado durante tres meses fue de 20 a 30 minutos. Asimismo, observaron descenso en el valor nutritivo el cual no presentó correlación con los valores de lisina y metionina disponibles. Por otro lado, el deterioro en la calidad proteínica parece tener relación directa con el coeficiente de rehidratación del producto. Se sugiere que el almacenamiento puede ejercer ciertos - efectos sobre la calidad proteínica del frijol y sobre los procesos óptimos a escogerse en función del valor nutritivo.

5. Probables mecanismos para explicar el proceso de endurecimiento:

Varios autores han tratado de establecer la relación entre la dureza del grano y otros componentes del frijol, y aunque han propuesto diferentes - hipótesis, ninguna de éstas ha sido probada en su totalidad o respaldada por datos experimentales. Así Takayama y col. (86), aseguran que la dureza es tá muy relacionada con la composición lipídica y la peroxidación; Kon (53), relaciona la dureza con los cambios que ocurren en las sustancias pépticas; otros autores (8, 59, 71) tratan de explicar el proceso de endurecimiento como una consecuencia de la formación de complejos de proteína y ácido fítico; Lolas y Markakis (60), sugieren que el endurecimiento puede deberse a la acción de la enzima fitasa y la liberación de iones calcio; Hellendoorn (41), considera la degradación del almidón como factor determinante en el endurecimiento de la semilla almacenada; y Molina y col. (68), opinan que la dureza del frijol almacenado, se debe en gran parte a la formación de complejos de proteína y compuestos fenólicos.

Molina y col. (68), basan su hipótesis en los resultados obtenidos de germinación y concentración de proteínas lignificada en granos del frijol negro con tratamiento térmico previo al almacenaje. Ellos encontraron que la fracción de proteína lignificada en el cotiledón, en el frijol almacenado a 25°C, tiende a aumentar con el tiempo ($r=0.91$); mientras que en las muestras almacenadas a 4°C el valor de esta fracción es más bajo.

En la hipótesis mencionada por Molina y col. (68), posiblemente son dos los sistemas enzimáticos que actúan en la semilla, produciendo como consecuencia su endurecimiento: uno en el que interviene la lipoxidasa, y el otro en el que actúa la polifenoloxidasa (PFO).

La polifenoloxidasa (O-difenol: oxígenooxidoreductasa, EC 1.10.3.1), ha sido llamada también tirosinasa, polifenolasa, catecol oxidasa, cresolasa y catecolasa (90), es una enzima que contiene cobre y cataliza dos tipos básicos de reacción:

1. Hidroxilación: Consiste en la hidroxilación de un monofenol para producir un compuesto ortodifenólico. Esta reacción es llamada - actividad de cresolasa.
2. Oxidación: ocurre con un O-difenol, tal como el catecol, para formar la O-quinona correspondiente. Esta reacción es la actividad - de catecolasa (90).

Esta enzima fue identificada por Shoibein en 1856 en hongos. Se encuentra también a concentraciones particularmente altas en tubérculos de papa, melocotones, bananos, aguacate, hojas de te, granos de café y hojas de tabajo (4, 90).

Reyes y Lunh (76), afirman que las reacciones enzimáticas de oscurecimiento son producidas por peroxidasas tanto en frutos almacenados como en refrigeración. Este oscurecimiento va acompañado por cambios de sabor y valor nutritivo, disminuyendo así la calidad del fruto.

Existen varios métodos para evitar el oscurecimiento, entre los cuales se incluyen métodos físicos como el calor y exclusión del oxígeno, y químicos, como el uso de antioxidantes, como por ejemplo el ácido ascórbico (4, 90).

IV. JUSTIFICACIONES

El endurecimiento del frijol debido a condiciones inadecuadas de almacenamiento, constituye un serio problema para los países de América Latina.

Se ha calculado que en Centroamérica, solamente en el año de 1977, se perdieron alrededor de 12 millones de dólares debido a este fenómeno. La consecuencia más directa y visible de este problema es aumento en el tiempo de cocción de la semilla y, por ende, aumento en el consumo de combustible, lo que ocasiona rechazo de este alimento básico por el ama de casa. Además, se ha comprobado que otras características del grano, como sabor y el valor nutritivo, también pueden resultar afectadas.

Por otro lado, a nivel nacional el problema tiene implicaciones económicas relacionadas con el consumo de combustible, principalmente en el medio rural. Asimismo, tiene implicaciones nutricionales, ya que disminuye la disponibilidad de este componente básico de la dieta centroamericana.

A pesar de que se conocen bastante bien las condiciones de almacenamiento que pueden prevenir el endurecimiento de la semilla, éstas son relativamente costosas para que puedan implementarse en el área rural de nuestros países.

Por lo tanto, es importante estudiar cuales son los posibles mecanismos bioquímicos que causan este fenómeno, bajo diferentes condiciones de almacenamiento. El conocimiento de estos mecanismos pueden conducir a alternativas más económicas para prevenir el endurecimiento de la semilla, para que fácilmente puedan ser implantadas en nuestro medio.

V. OBJETIVOS

1. Estudiar el efecto de la humedad del grano, la temperatura ambiental, la composición gaseosa de la atmósfera y el tiempo del almacenamiento sobre el contenido de proteínas y taninos, y sobre la actividad de la polifenol oxidasa de semillas de frijol común (P. vulgaris).
2. Correlacionar dichos parámetros con la dureza y el tiempo de cocción del frijol.

VI. HIPOTESIS

La acción de la polifenoloxidasa sobre los compuestos fenólicos presentes en la cubierta de la semilla del frijol, afecta la permeabilidad de ésta durante el almacenamiento, causando así la dureza del grano.

VII. ASPECTOS METODOLOGICOS

a. Universo de trabajo:

Para el presente estudio se utilizaron dos variedades de frijol común (Phaseolus vulgaris), el frijol negro (variedad Suchitán) y el frijol rojo (variedad roja Seda), ambos de cosecha reciente.

Estos frijoles fueron limpiados, seleccionados por tamaño, y almacenados por un período de seis meses, de acuerdo al diseño experimental adjunto (Figura 1). La humedad de los granos de frijol para ambas variedades fue de 9,13 y 17% en equilibrio con una humedad relativa de 40, 60 y 80%, respectivamente (22). Las temperaturas usadas para cada humedad fueron de 4, 20 y 36°C, esto cubre rangos de temperaturas encontrados en las regiones de América Central. Los frijoles fueron colocados en bolsas de tela y éstas adentro de frascos de vidrio. Los frascos fueron colocados en forma seriada en atmosferas de CO₂ y aire. El propósito de inyectar estos gases fue el de proveer contenidos de CO₂ y oxígeno para examinar el efecto de la presencia de O₂ sobre ciertos procesos bioquímicos que se efectúan en la semilla.

b. Materiales y Métodos:

Se tomaron muestras de frijol que fueron sometidas al tratamiento anterior (ver diseño experimental), se molieron y pasaron a través de un tamiz número 60. Estas harinas se guardaron en frascos de vidrio previamente rotulados y se almacenaron en un cuarto frío a 4°C.

Para la determinación de taninos como equivalentes de catequina se utilizó el método descrito por Price y colaboradores (74), y se utilizó un espectrofotómetro Beckman modelo 24, a una longitud de onda de 500 nm. Este método fue utilizado debido a su especificidad para la determinación de taninos condensados.

El método micro Kjeldahl (3), se utilizó para determinar el contenido aproximado de proteínas totales.

La actividad de la polifenoloxidasas (PFO) se determinó en el extracto enzimático obtenido a partir de la harina de frijol según el método descrito por Flurkey y Jen (34). El catecol fue usado como sustrato para poder medir la reacción enzimática, la cual se llevó a cabo a temperatura ambiente. La actividad de la polifenoloxidasas se determinó midiendo el aumento de absorción con un espectrofotómetro graficador marca Gillmore a una longitud de onda de 400 nm. Una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima que causa un cambio de absorbancia de 0.001/min.

c. Análisis Estadístico

De los resultados obtenidos se efectuaron los análisis de regresión simple y múltiple y de correlación, de acuerdo al diseño experimental (92).

VIII. RESULTADOS

Debido a que el presente trabajo se llevó a cabo como parte de un proyecto de investigación más amplio (Figura 1), se hace necesario indicar qué criterios se siguieron para analizar los resultados obtenidos en el presente estudio. En primer lugar, se analizó el efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el comportamiento de cada uno de los parámetros químicos estudiados, objeto central de este trabajo. Posteriormente, se correlacionaron dichos parámetros con los cambios físicos observados (63) durante el mismo estudio y que fueron realizados como parte del proyecto global de esta investigación. Finalmente, se evaluaron los resultados en función del proceso de endurecimiento de la semilla bajo dos aspectos: uno relacionado a los diferentes cambios de dichos parámetros durante el almacenamiento y el otro referente a la posible participación de éstos en el mecanismo de endurecimiento "per se".

1. Efecto de las Diferentes Condiciones de Almacenamiento Sobre los Parámetros Químicos Estudiados

El Cuadro 1 muestra los cambios observados en el contenido de catequina de los cultivares de frijol negro y rojo almacenados bajo diferentes condiciones, por un período total de seis meses. Como se puede observar, se detectó un comportamiento diferente del frijol negro con respecto al rojo, al analizar en forma independiente el efecto de cada una de las condiciones de almacenamiento estudiadas. En el caso del frijol negro se encontró un efecto significativo de la atmósfera (aire), de la mayor temperatura y del menor tiempo de almacenamiento en disminuir el contenido de catequina. En cambio, al analizar el frijol rojo, sólo se obtuvo disminución significativa en el caso de la temperatura de almacenamiento. Con respecto a la enzima polifenoloxidasa (Cuadro 2), se encontró también diferencia en los resultados obtenidos con los dos cultivares de frijol. En el caso del frijol negro, la actividad de esta enzima estuvo afectada significativamente por las mismas condiciones que aquellas observadas para equivalentes de catequina, es decir, por la atmósfera, la temperatura y el tiempo de almacenaje. Sin embargo, el efecto es en sentido inverso para la enzima polifenoloxidasa que para equivalentes de catequina en temperatura, es decir, mayores temperaturas producen mayor actividad enzimática. Por otra parte, en el caso de la variedad roja esta actividad sólo estuvo influenciada significativamente por la atmósfera en sentido inverso que en la variedad negra. La temperatura influyó en forma diferente en ambas variedades. El Cuadro 3 muestra los cambios observados en el contenido de proteína en lo que se refiere a las mismas condiciones de almacenaje. En este caso se observó un comportamiento similar para los dos cultivares, ya que sólo el contenido de humedad del grano mostró un efecto significativo en disminuir el contenido de este nutriente.

Ya que la hipótesis presentada en este estudio asumía la posibilidad de una relación de los parámetros químicos estudiados con el proceso de endurecimiento del frijol fue necesario revisar y correlacionar los resultados encontrados por otros investigadores (26) con respecto al efecto de las mismas condiciones de almacenamiento, sobre algunos parámetros físicos realizados durante el transcurso del mismo estudio. El Cuadro 4 muestra los resulta

dos encontrados por dichos investigadores para la determinación de la dureza de la semilla. Como se puede notar, los datos indican un comportamiento similar para ambos cultivares en los que se refiere al efecto individual de las condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo del proceso de endu recimiento.

En este caso, la dureza de los frijoles negro y rojo solo estuvo afectada significativamente por el tiempo de almacenamiento. Otras condiciones individuales, como la atmósfera, la humedad y la temperatura aunque no significativas mostraron tener un efecto sobre la dureza de estas leguminosas de grano. Estos efectos no fueron tan claros cuando se analizaron los datos referentes al tiempo de cocción, como se puede observar en el Cuadro 5. En este caso, también se puede notar diferencias marcadas en los dos cultivares, con respecto al efecto individual de las diferentes condiciones de almacenamiento sobre el tiempo de cocción. En el caso del frijol negro, la temperatura y el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto adverso significativo en las características de cocción, mientras que la atmósfera y la humedad del grano solo mostraron un efecto similar pero no significativo en esta característica culinaria del frijol. Sin embargo, es de interés señalar que en el caso de la variedad de frijol rojo, el tiempo de cocción aumentó significativamente debido al efecto individual de todas y cada una de las condiciones de almacenamiento estudiadas (atmósfera, humedad, temperatura y tiempo).

Con respecto al coeficiente de absorción de agua, los datos que se muestran en el Cuadro 6, indican que en el caso del frijol negro, no se encontró ningún efecto significativo de las diferentes condiciones de almacenamiento estudiadas; sin embargo, en lo que se refiere al frijol rojo, se encontró que la humedad del grano y el tiempo de almacenamiento sí afectan significativamente la capacidad de absorción de agua de la semilla.

Los datos químicos obtenidos en el presente trabajo y los datos de orden físico obtenidos por otros investigadores durante el transcurso del mismo estudio, fueron sometidos también a un análisis de varianza para determinar cómo las condiciones de almacenamiento asociadas entre sí afectan los parámetros químicos y físicos. Debido a que el diseño experimental presenta cantidades de dobles interacciones, solo se presentarán aquellas cuya significancia tenga una probabilidad de 5%, como se muestran en los Cuadros 7 y 8 para los análisis químicos y físicos respectivamente.

Los resultados obtenidos con respecto a las interacciones para el contenido de catequina se muestran en la Figura 2. Como se puede observar, las interacciones obtenidas muestran un comportamiento irregular y un patrón de respuesta diferente para los dos cultivares de frijol estudiados. En lo que se refiere al frijol negro, en la interacción entre atmósfera y humedad se encontró un efecto significativo de la humedad en disminuir el contenido de catequina en atmósfera de CO₂; resultados diferentes se obtuvieron en atmósfera de aire. No se obtuvo interacción significativa alguna en el caso del frijol rojo. En cambio, la interacción entre atmósfera y temperatura fue significativa para el cultivar de color rojo, e indicó en ambas atmósferas de almacenamiento un efecto marcado de la temperatura en disminuir el contenido de catequina. Comportamiento diferente se obtuvo también con respecto a la interacción entre humedad del grano y temperatura. En el caso del frijol negro, se encontró que un mayor contenido de humedad estaba significativamente

asociado y afectado por la temperatura en la disminución en el contenido de este polifenol. Dicha interacción no fue tan clara como en el caso del frijol rojo donde, si bien la muestra almacenada con mayor contenido de humedad se comportó de una manera similar, la de 9% de humedad mostró un comportamiento opuesto, en lo que se refiere al contenido de catequina. Finalmente, se encontró también, y solo en el caso del frijol negro, una interacción significativa entre las diferentes temperaturas y el tiempo que las muestras estuvieron almacenadas.

La figura 3, muestra en forma de gráfica las interacciones dobles significativas encontradas para la actividad de la enzima polifenoloxidas (PFO).

De una manera similar a los datos obtenidos con las interacciones referentes al contenido de catequina, los resultados mostraron también diferencias con respecto a la variedad de frijol estudiada. En el caso del frijol negro se encontró que la actividad de la PFO estuvo afectada por la interacción entre la atmósfera y la humedad, encontrándose una mayor actividad en atmósfera de CO₂. Asimismo, en dicha condición la mayor humedad del grano favoreció una mayor actividad. Resultados opuestos se obtuvieron en atmósfera de aire. Los análisis también mostraron para el frijol negro una influencia significativa de la atmósfera y la temperatura, y la actividad de PFO, cuando las muestras se almacenaron en CO₂. En atmósfera de aire, dicha relación sólo se observó hasta los 20°C, para luego disminuir. Resultados similares y significativos se obtuvieron también en el caso del frijol rojo.

Se encontró asimismo, en el caso de frijol negro una interacción entre la atmósfera y tiempo de almacenamiento, indicando en el caso de la atmósfera de CO₂ una disminución de la actividad de PFO con el tiempo. Dicha interacción no fue tan clara en el caso de atmósfera de aire, donde esta actividad aumentó a los 4 meses de almacenaje para luego disminuir a los 6 meses. Los datos que se muestran en la Figura 3, indican también una interacción entre temperatura y humedad, y temperatura y tiempo de almacenamiento. En el primer caso, y para ambos cultivares, a 9% de humedad del grano, se encontró una relación directa entre temperatura y actividad de PFO, no así en el caso de las mismas variedades almacenadas en un contenido de 13% de humedad; en este último caso, la máxima actividad de la enzima se obtuvo a los 20°C, para luego disminuir a los 36°C. Finalmente, la interacción entre la temperatura y tiempo de almacenaje, mostró que de una manera general la mayor actividad a través del tiempo se obtuvo a 20°C y que a esta temperatura se observó además un aumento progresivo de la actividad de los dos a los seis meses de almacenamiento.

La Figura 4, muestra valores del contenido de proteína con respecto a las interacciones. Como puede observarse, la atmósfera estuvo relacionada con la temperatura y la humedad del grano. En lo que se refiere a la primera interacción (atmósfera por temperatura) se puede observar que tanto en el caso del frijol negro como en el del rojo almacenado en CO₂ y aire, el contenido de proteína estuvo afectado por la temperatura, principalmente a 20°C. Es de interés indicar también que, por lo general, a esta temperatura se encontraron los valores más altos de proteína, a excepción de la muestra de frijol negro almacenada en aire. Con respecto a la interacción entre atmósfera y humedad, los datos solo fueron significativos para el frijol rojo

e indicaron un menor contenido de proteína en las muestras con un mayor contenido de humedad (13%), siendo que la mayor disminución de este parámetro fue observada en la atmósfera de CO₂.

Se encontró, asimismo, que el contenido de proteína estuvo influenciado a través del tiempo por una interacción con la humedad del grano y la temperatura de almacenamiento. En el caso del frijol negro, el contenido de proteína de las muestras con un menor contenido de humedad (9%) mostró una tendencia a disminuir, mientras que con 13% de humedad el porcentaje de proteína se incrementó. Es también de interés indicar que dichos cambios fueron más pronunciados entre los 2 y 4 meses de almacenaje. En lo que se refiere a la temperatura, se encontró de una manera general una relación inversa entre ésta con el porcentaje de proteína durante el tiempo de almacenamiento. Nuevamente se puede observar en la gráfica (Figura 4) que los cambios más bruscos se observan entre los dos y cuatro meses de almacenaje.

Con respecto a los análisis de varianza realizados con los parámetros físicos y tecnológicos (Cuadro 8 y Figura 5), los resultados indican que solo se obtuvo significancia estadística en el caso del frijol rojo. El coeficiente de absorción de agua fue influenciado por la atmósfera de almacenaje y la humedad del grano, observándose una tendencia a aumentar en las muestras almacenadas en atmósfera de CO₂, encontrándose la mayor absorción en las muestras con mayor contenido de humedad (13%). Asimismo, se encontró también que el desarrollo de la dureza a través del tiempo estuvo influenciada por la atmósfera de almacenamiento. Con respecto a ésta, la condición de CO₂ mostró una tendencia a favorecer el proceso de dureza al comparar con la atmósfera de aire después del cuarto mes de almacenamiento. Finalmente, se encontró de una manera general que la temperatura estaba asociada directamente al tiempo de cocción, a través del tiempo, indicando que a mayor temperatura, mayor tiempo de cocción.

REGRESIONES MULTIPLES

Los resultados obtenidos a través de los análisis estadísticos presentados anteriormente, mostraron un comportamiento diferente para los dos cultivos de frijol estudiados, así como resultados parciales con respecto al efecto de las condiciones de almacenamiento individuales o cambios sobre los parámetros estudiados. Por lo tanto, con el propósito de evaluar cómo ciertos factores presentes en la semilla del frijol fueron influenciados por otros durante el período de almacenamiento se utilizó el análisis de regresión múltiple. Para hacer esta observación se dejó un factor como variable dependiente, poniendo todos los demás factores evaluados en juego como variables independientes. A estas variables independientes se les asignó un número de importancia por su valor neto sin importar su signo y así de esta manera observar cuál es su posición para influenciar a la variable dependiente, no importando su significancia estadística. En el caso de existir ésta, se entiende que la contribución de esa variable dependiente, considerando las demás variables independientes a un nivel fijo es muy importante. El estudio se dividió en dos partes, una para frijol negro y otra para rojo, a fin de facilitar su interpretación posterior.

Frijol Negro:

1. Absorción de agua en frijol negro: en función de catequina, PFO, % de proteína y dureza, difieren a través del tiempo así: la dureza asociada significativamente a los dos meses de almacenaje; sin embargo, a los 4 meses y a los 6 meses ninguna de las condiciones afectan significativamente. La importancia de la dureza desaparece y las tendencias en la asociación con la PFO y proteína se invierten a través del período (Tabla 9).
2. Dureza: es analizada dependiendo de catequina, PFO, proteína y coeficiente de absorción de agua. Los niveles de dureza del grano están asociados significativamente con el coeficiente de absorción de agua - en forma positiva a los 2 meses de almacenamiento, pero a medida que transcurre el tiempo, aunque mantiene su tendencia positiva la asociación significativa desaparece. La proteína, que a los dos meses de almacenamiento tiene el segundo lugar en influencia en la dureza, mantiene el mismo lugar a los 6 meses de almacenamiento, mientras que a los 4 meses de almacenamiento ocupa el primer lugar (NS), manteniendo durante el estudio su tendencia con signo positivo (Cuadro 10).

Los equivalentes de catequina, que a los 2 meses de almacenamiento ocupan la tercera posición en influencia, van cobrando importancia a medida que el tiempo transcurre, llegando a ocupar a los 6 meses de almacenamiento el primer lugar. Aunque al inicio del estudio su signo no era positivo, en los dos últimos períodos de tiempo (4 y 6 meses) el signo es negativo (Cuadro 10).

3. Tiempo de cocción en el frijol negro; el tiempo de cocción dependiendo de catequina, PFO, % de proteína, coeficiente de absorción de agua y dureza del grano, está asociado a los equivalentes de catequina durante todo el estudio. Aunque en el primer período (2 meses) el efecto no es significativo, fue el efecto más importante, conservando esta posición durante los 2 últimos períodos, en donde sí tuvo un efecto estadísticamente significativo, como se muestra en el Cuadro 11. Es decir, la relación entre tiempo de cocción y niveles de catequina es negativo durante el período de almacenamiento.
4. Equivalentes de catequina en frijol negro: en función de PFO, % de proteína y coeficiente de absorción de agua, difiere en el período. Únicamente la PFO resulta tener un efecto significativo a los 4 meses de almacenamiento el grano y la tendencia fue semejante en todo el período. La tendencia de la proteína, sin embargo, cambió a través del tiempo (Cuadro 12).

Frijol rojo

1. Coeficiente de absorción de agua en frijol rojo: la proteína al inicio del almacenaje es la que más afecta al coeficiente de absorción de agua, mientras que a los 4-6 meses de almacenamiento, es la dureza la que ocupa la primera posición y con tendencia negativa. Es de hacer notar que los taninos durante todo el tiempo de almacenaje en estudio para esta variedad de frijol, son los que afectan en segundo lugar al coeficiente de absorción de agua como se puede observar en el Cuadro

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

2. Dureza en frijol rojo: la dureza dependiendo de catequina, PFO, proteína y coeficiente de absorción de agua, presenta que a los 2 meses - de almacenamiento, la enzima PFO ocupa la primera posición de efecto sobre la dureza, pero pierde importancia a medida que transcurre el tiempo teniendo en los últimos períodos de almacenaje (4 y 6 meses) la misma posición. Por otro lado, el coeficiente de absorción de agua que a los 2 meses ocupaba el segundo lugar, en el transcurrir del tiempo (4-6 meses) ocupa la primera posición. Aunque esto solo es a nivel de tendencia. La forma en que los otros factores independientes varían, se muestra en el Cuadro 14.
3. Tiempo de cocción en frijol rojo: Como se muestra en el Cuadro 15, - el coeficiente de absorción de agua que afecta el tiempo de cocción al inicio, va perdiendo importancia a medida que el tiempo transcurre - mientras que la catequina que a los 2 meses de almacenaje no tenía - importancia, a medida que transcurre el tiempo, mantiene la primera posición, siendo estadísticamente significativo a los 4 meses; la tendencia de la catequina es negativa.
4. Equivalentes de catequina en frijol rojo: la proteína afecta en primera posición a los 2 meses de almacenaje perdiendo importancia gradualmente a medida que el tiempo de almacenaje transcurre, en tanto que el coeficiente de absorción de agua que a los 2 meses ocupa la segunda posición, en los dos últimos períodos de almacenaje (4-6 meses) - mantiene la primera posición en influencia aunque no significativa - (Cuadro 16), el Cuadro 17 presenta los resultados de comparación de estos mismos datos obtenidos con el frijol negro y con el frijol rojo, y mostrando solamente los parámetros que ocuparon el primer lugar a los 2, 4 y 6 meses de almacenamiento. Como se puede apreciar, a excepción del tiempo de cocción, todos los demás parámetros estuvieron afectados por diferentes factores a diferentes etapas del almacenamiento, cuando se compara el frijol negro con el rojo. La capacidad de absorción de agua en el caso del cultivar negro, estuvo afectada - inicialmente por la dureza, a los 4 meses por la actividad de la enzima PFO y a los 6 meses por el contenido de catequina; en cambio en - el frijol rojo, la proteína y la dureza fueron los más importantes a los 2, 4 y 6 meses respectivamente.

El objetivo principal de este trabajo fue el de contribuir al conocimiento del mecanismo de endurecimiento del frijol bajo diferentes condiciones de almacenamiento. Más específicamente, el de estudiar el posible papel de los polifenoles en el desarrollo de este fenómeno. Como se menciona anteriormente en la sección de resultados, para lograr dicho objetivo fue necesario - hacer referencia a datos adicionales, tales como absorción de agua, dureza y tiempo de cocción, obtenidos por otros investigadores (26, 63), durante este mismo estudio. Dichos resultados serán discutidos más adelante, con el propósito de evaluar el efecto de los polifenoles sobre estos parámetros físicos.

Los posibles mecanismos que han sido propuestos para explicar el proceso de endurecimiento del frijol, y los factores que afectan positivamente o negativamente este fenómeno sugieren que, desde el punto de vista bioquímico, dicho proceso involucra reacciones de naturaleza enzimática, tales como la oxidación y la polimerización de los ácidos grasos (68) los cambios en las sustancias pécticas (53), y la presencia de complejos proteino-fitatos en el frijol común (8, 59, 71).

La hipótesis formulada en el presente estudio propone la posible participación de los polifenoles en el proceso de endurecimiento del frijol, por lo menos en parte, a través de un mecanismo enzimático. Los polifenoles fueron determinados como equivalentes de catequina y la polifenoloxidasa (PFO) como la enzima que actúa en este grupo de sustancias (polifenoles). Los resultados obtenidos parecen confirmar al menos parcialmente y en las condiciones del presente estudio, la validez de esta hipótesis. Esta aseveración se fundamenta en una serie de resultados que se discutirán a continuación. En primer lugar, independiente de la variedad, el contenido de catequina y la actividad de la PFO estuvieron afectadas por las mismas condiciones que favorecen el proceso de endurecimiento del frijol, tales como la humedad del grano, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (63). Dicho efecto se tradujo en una disminución en el contenido de catequina y un aumento en la actividad de la PFO, en las condiciones que son propicias para el desarrollo del fenómeno de la dureza del frijol. Es importante señalar, sin embargo, que los datos - obtenidos al analizar los cultivares de frijol en forma independiente, mostraron algunos aspectos interesantes que se deben señalar, por ejemplo la marcada diferencia en el contenido de catequina entre el frijol negro y el frijol rojo; esta diferencia puede ser no solo cuantitativa sino cualitativa ya que, como se puede observar, las muestras también mostraron diferencias con respecto al efecto de las diferentes condiciones de almacenamiento sobre el contenido de catequina y la actividad de la PFO. Los datos obtenidos con respecto al mayor contenido de polifenoles, expresados como equivalentes de catequina en el frijol rojo comparado con la variedad negra, confirman los resultados de otros investigadores (16); aún más, se ha informado también no sólo diferencias entre cultivares de diferentes colores, sino también entre cultivares de un mismo color (25). Estos resultados señalan una vez más la importancia de determinar en futuros estudios no sólo el contenido, sino también la

naturaleza de los pigmentos presentes en la testa del frijol.

Los resultados referentes al desarrollo del proceso de endurecimiento en las condiciones de almacenamiento usadas en el presente estudio indicaron que, de una manera similar a lo ocurrido con el contenido de catequina y la actividad de la PFO, e independientemente de la variedad, la dureza y el tiempo de cocción fueron adversamente afectados por una atmósfera de aire, por un mayor contenido de humedad del grano y por una mayor temperatura y tiempo de almacenamiento. El efecto adverso de estas condiciones de almacenamiento sobre un aumento en el tiempo de cocción de los frijoles, ha sido reportado anteriormente (22, 24) y los datos obtenidos en el presente estudio confirman dichos hallazgos. Sin embargo, el efecto de la atmósfera de almacenamiento no ha sido informada previamente y, por lo tanto, constituye una contribución positiva de este estudio sugiriendo junto con los datos anteriores una posible asociación de los polifenoles en este problema. Además, los datos obtenidos con respecto a este parámetro tecnológico para las variedades de frijol negro y rojo, mostraron nuevamente diferencias en el comportamiento de estas dos variedades. El frijol rojo mostró una menor capacidad de absorción de agua, una mayor dureza y un mayor tiempo de cocción al comparar con el cultivar negro. Estas diferencias podrían estar asociadas a las diferencias previamente mencionadas para estos dos cultivares, con respecto al contenido y la naturaleza de los pigmentos presentes en las dos variedades.

Los resultados obtenidos con respecto a las interacciones dobles, muestran nuevamente la diferencia en el comportamiento de los dos cultivares de frijol estudiados. En el presente caso estas diferencias se manifiestan principalmente en una mayor susceptibilidad del frijol rojo a la atmósfera y temperatura de almacenamiento en comparación con el frijol negro; esta mayor susceptibilidad se reflejó también en una mayor interacción entre estas condiciones y los parámetros físico-tecnológicos estudiados. Esta mayor susceptibilidad puede deberse al mayor contenido y/o a la naturaleza de los pigmentos presentes en el cultivar de color rojo.

Estos resultados, así como aquellos relacionados con el efecto individual de las diferentes condiciones de almacenamiento, sugieren que la naturaleza de las reacciones que se llevan a cabo están relacionadas a procesos de orden enzimático, a juzgar por la relación e interacciones obtenidas. Es un hecho bien conocido que las polifenoloxidasas son enzimas que necesitan de oxígeno y de un sustrato (polifenoles) para su acción (27). Dichas condiciones están presentes en este estudio, ya que las condiciones de atmósfera estudiadas, incluyen presencia y ausencia de oxígeno, y el polifenol fue determinado como equivalentes de catequina. De una manera general, la actividad enzimática estuvo favorecida por condiciones de almacenamiento que involucran la presencia de aire, un mayor contenido de humedad de la semilla, y por una mayor temperatura y un mayor tiempo de almacenamiento.

Desde el punto de vista práctico el problema de endurecimiento del frijol se refleja en un mayor tiempo requerido para que la semilla se suavice durante el proceso térmico de cocción. Este, a su vez, es dependiente de una serie de factores físicos y químicos inherentes a la semilla, como lo han señalado diferentes investigadores (26, 79, 80, 81).

De una manera general se ha dicho que la duración del tiempo de cocción está asociada a la dureza de la semilla y este último fenómeno a la menor capacidad de absorción de agua por parte de la semilla. Esto significa que el tiempo de cocción debe estar correlacionado positivamente con la dureza y negativamente con la capacidad de absorción de agua; a su vez se debería encontrar una correlación negativa entre absorción de agua y dureza. En una revisión reciente sobre el problema del endurecimiento del frijol, Elías (26) ha indicado que lo dicho anteriormente se ha confirmado para la correlación entre absorción de agua y dureza, mientras que en el caso de las correlaciones entre tiempo de cocción y dureza y tiempo de cocción y absorción de agua, los resultados no han sido consistentes. Dicha revisión justifica estas diferencias en los resultados, con base a los diferentes factores que afectan dichos parámetros, así como a la falta de normalización de la metodología usada. Concluye, asimismo, que la uniformidad metodológica es un factor importante a tomar en cuenta en futuros estudios sobre este problema.

El efecto de diferentes factores a través del tiempo, sobre los diferentes parámetros químicos y físicos mostró también resultados interesantes, que nuevamente sugieren la participación de los polifenoles en el problema del endurecimiento del frijol. Como se puede observar en el Cuadro 17, que resume estos resultados, el tiempo de cocción para ambas variedades estuvo afectado principalmente por la concentración de catequina; es también importante indicar que a los dos meses de almacenamiento para ambas variedades, la dureza estuvo afectada primordialmente por la capacidad de absorción de agua por parte de la semilla, indicando la importancia de este parámetro en la semilla recién cosechada y/o sometida a un tiempo relativamente corto de almacenamiento. Finalmente, estos datos revelan nuevamente las diferencias en respuesta, cuando se observan los cultivares individualmente, así como indican que el fenómeno de endurecimiento del frijol es un proceso dinámico donde distintos factores influyen de una manera diferente a través del tiempo. De acuerdo a las diferentes evidencias obtenidas en los parámetros químicos en este estudio y en los parámetros físicos informados por otros investigadores (63) durante el mismo proyecto de investigación, es posible suponer la participación de los polifenoles en el problema de dureza del frijol, hipótesis central de este trabajo. La evidencia experimental previamente discutida, y datos adicionales publicados en la literatura (62) permiten suponer que la presencia de los polifenoles podría contribuir al problema del endurecimiento a través de dos posibles mecanismos. El primero estaría relacionado con un cambio adverso en la estructura de la testa, debido a la polimerización de los polifenoles presentes en la misma, trayendo como consecuencia una menor capacidad de hidratación por parte de la semilla, en los primeros meses de almacenamiento, lo cual fue demostrado en el presente estudio. Esta posibilidad estaría soportada por una disminución en el contenido de catequina y un aumento en la actividad de la polifenoloxidasa; los resultados obtenidos en los análisis de las regresiones múltiples, mostraron que a los dos meses de almacenamiento, la dureza estuvo afectada principalmente por la capacidad de absorción de agua en el frijol negro y por la PFO en el caso del cultivar rojo. Esta diferencia inicial se debe posiblemente al mayor contenido de catequina del frijol rojo, lo cual se tradujo en una mayor actividad de la PFO por un tiempo más largo para luego reflejarse en la capacidad de absorción de agua. Es también posible que el sustrato de la enzima del frijol rojo sea diferente no solo en cantidad sino también en la naturaleza del mismo. Pareciera así

que la predominancia de los parámetros a una determinada etapa del almacenamiento, depende no solo de las condiciones usadas, sino también del contenido de sustancias involucradas en la reacción. Se podría pensar así que en el presente caso un mayor contenido de polifenoles del frijol rojo se reflejaría en una mayor actividad de la PFO por un tiempo más prolongado, retardando el efecto predominante sobre el fenómeno físico de la capacidad de absorción de agua, y no llegando a mostrar un efecto prioritario de la catequina a los seis meses. En cambio, el frijol negro debido posiblemente a su menor contenido inicial de catequina, mostró un desarrollo más acelerado del proceso ya que los seis meses fue evidente el papel preponderante de la catequina. La diferencia en el grado de desarrollo del proceso de endurecimiento y la participación de los polifenoles en el mismo se puede observar también con respecto al tiempo de cocción. En este caso, se observó un efecto de la catequina desde el inicio para el frijol negro, y solo a los cuatro meses para el cultivar rojo. De nuevo, independientemente de la diferencia en la respuesta de los dos cultivares es evidente la participación de los polifenoles en el proceso de endurecimiento y del tiempo de cocción de las muestras estudiadas.

El segundo mecanismo se refiere a la posible formación de complejos de proteína con compuestos fenólicos (68). Estos estudios han mostrado un aumento en la fracción de proteína lignificada del cotiledón en granos de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) almacenado a 25°C, mientras que en las muestras almacenadas a 4°C el valor de esta fracción fue más bajo. Asimismo, se encontró también una correlación ($r = 0.91$) entre la fracción de proteína lignificada y la dureza de las muestras estudiadas.

En lo que se refiere a ese estudio (68) es importante mencionar que los análisis fueron llevados a cabo después de haber sometido el frijol a un proceso de remojo y cocción para medir la dureza del mismo. De esto se infiere que la separación de la cáscara del cotiledón fue realizada después del proceso de cocción permitiendo así la migración de los pigmentos al cotiledón ya que son solubles en agua.

Como en el presente estudio no se determinó proteína lignificada en las muestras analizadas, queda la duda de si este mecanismo fuera aplicable en el presente trabajo de investigación.

X. CONCLUSIONES

1. Los resultados mostraron que bajo las condiciones de almacenamiento usadas en el presente estudio, independientemente de la variedad del frijol estudiada, se observó una disminución en el contenido de polifenoles, expresado como equivalentes de catequina. Esta disminución estuvo relacionada a la atmósfera de almacenamiento, a la humedad del grano, a la temperatura y al tiempo de almacenamiento.
- 2.- La actividad de la enzima polifenoloxidasas (PFO) estuvo asociada de una manera inversa a la disminución del contenido de catequina, y fue afectada por las mismas condiciones de almacenamiento previamente mencionadas.
3. A excepción del contenido de humedad del grano, ninguna otra condición de almacenamiento afectó el contenido total de proteína de las muestras.
4. El frijol rojo mostró un contenido significativamente mayor de catequina y de la actividad de la PFO al comparar con el cultivar negro, no así en el contenido de proteínas que fue similar para ambas variedades. Se encontró también diferencias en el patrón de respuestas entre los dos cultivares con respecto al efecto de las condiciones de almacenamiento, sobre los parámetros medidos en este estudio. El frijol rojo mostró una mayor susceptibilidad a la atmósfera y a la temperatura en comparación con el frijol negro.
5. El análisis de los datos de orden físico y tecnológico obtenidos por otros investigadores (62, 63) durante el transcurso del proyecto al cual estaba asociado el presente estudio, mostró que la dureza y el tiempo de cocción de las muestras fueron afectados negativamente por las mismas condiciones de almacenamiento que afectan el contenido de catequina y la actividad de la polifenoloxidasas (PFO), sugiriendo así una relación entre los polifenoles y el proceso de endurecimiento de la semilla.
6. Finalmente, los datos obtenidos sugieren que la disminución en el contenido de polifenoles, expresados como equivalentes de catequina, se debe a una reacción de naturaleza enzimática, catalizada por la polifenoloxidasas, y que el mecanismo de endurecimiento de la semilla estuvo en parte influido por un proceso de polimerización de los polifenoles presentes en la testa.

XI. RECOMENDACIONES

1. Es muy importante que en futuros estudios se desarrollen metodologías tendientes a caracterizar la naturaleza y el contenido de los polifenoles presentes en las leguminosas de grano de diferentes colores. Esta ca racterización cualitativa y cuantitativa permitirá conocer mejor la rela ción entre estos compuestos y el proceso de endurecimiento del frijol.
2. Que se uniformicen las metodologías químicas, físicas y tecnológicas - con el propósito de que los datos obtenidos en los diferentes estudios - sean comparables entre sí.
3. Al analizar los datos del presente estudio, se encuentran aspectos de gran interés que deberían ser objeto de futuros estudios; para un mejor esclarecimiento del problema. El fenómeno de endurecimiento del fri jol mostró ser un proceso dinámico que involucra aspectos de naturale za física, química, físico-química y bioquímica; por lo tanto, es nece sario cuantificar mejor a diferentes tiempos de almacenamiento la im portancia de cada uno de los factores involucrados en el proceso. Esta cuantificación permitirá no solo comprender mejor el problema de en durecimiento, sino también proponer parámetros confiables que pue dan predecir el deterioro en la calidad de cocción del frijol.
4. Como ya se mencionó anteriormente, el valor interpretativo de los re sultados químicos obtenidos en este estudio estaría seriamente limita - do si no se relacionara con los datos de orden físico y tecnológico que se llevaron a cabo por otros investigadores (63), ya que el presente tra bajo es parte de un proyecto de investigación más amplio sobre el pro blema de endurecimiento del frijol.

Por lo tanto, se debería en futuros estudios extender esta interacción a la agricultura con el propósito de obtener mayor información sobre las características agronómicas de los cultivares que se estudien. Dicha información permitirá correlacionar los aspectos agronómicos con las características físico-químicas y tecnológicas del grano.

A este respecto es necesario también que se preste especial atención a la identificación de cultivares de frijol recién cosechado con diferentes tiempos de cocción, y establecer la magnitud y las causas de estas dife rencias. Asimismo, estudiar durante el almacenamiento el comporta miento de las variedades con diferentes tiempos iniciales de cocción. Estos aspectos son de suma importancia tanto para el fitotecnólogo co mo para el tecnólogo de alimentos. En el primer caso, para seleccio nar aquellas variedades que muestren un menor tiempo de cocción, y en el segundo para aspectos de control de calidad en la industria de los alimentos.

5. Finalmente, es aconsejable que en futuros estudios que se fundamenten en estos resultados se utilicen diseños experimentales más específicos, con el propósito de poder evaluar mejor los resultados.

XII. REFERENCIAS

1. Adams, M. W. "On the quest for quality in the fields of beans". En: "Symposium on the nutritional improvement of food legume breeding". Rome, Italy 3-5 julio, 1972. New York, John Wiley & Sons /c1975/ pp 143-149.
2. Aguirre, J.A. y H. Martínez. Los sistemas de producción de frijol en América Central. En: "El potencial del frijol y otras leguminosas de grano comestible en América Latina". Trabajos - presentados 26-II al 1-III 1973. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali Colombia.
3. Association of Official Analytical Chemists, D.C. Official methods of analysis of the A.O.A.C. Washington, D.C., 1970. 532 p.
4. Aurand, L. W. Food Chemistry. Westport Connecticut. Avi Publishing Co. Inc. 1973. 363 p.
5. Aykroyd, W. R. y J. Doughty. Legumes in human nutrition. Rome, Italy F.A.O. /c1964/ pp. 39-40/FAO, Nutritional Studies No. 19/.
6. Beck, R. N. "Soya flour and fecal thyroxine loss in rats". Endocrinology, 62: 582-592. 1958.
7. Bornside, G. H. e I. Cohn Jr. "The normal microbial flora, comparative bacterial flora of animal and man". Am. J. Digest. - Dis., 10: 844-852. 1965.
8. Bourdillon, J. "A cristalline bean seed protein in combination - with phytic acid". J. Biol. Chem., 189: 65. 1951.
9. Bourne, M. "Size, density and hard shell in dry beans". Food Tech. 21: 335-338. 1967.
10. Bowman, D.E. "Amylase inhibitor of navy beans". Science, 102: 359-385.
11. Boyd, W.C. y E. Sharpleigh. "Specific precipitating activity of plant agglutinins (Lectins)", Science, 119: 419. 1954.
12. Bressani, R., E. Marcucci, C.E, Robles y N.S. Scrimshaw. "Nutritive value of Central American beans. I. Variation in Nitrogen, Tryptophan, and Niacin content of Guatemala black beans. (Phaseolus vulgaris L.) and the retention of Niacin after - cooking". Food Res., 19: 263-268. 1954

13. _____; L. G. Elías y D. Navarrete. "Nutritive value of Central America beans. IV. The essential amino acid content of samples of black beans, rice beans and cowpeas of Guatemala". J. Food Sci. 26: 525-528. 1961.
14. _____; L. Elías y T. Valiente. "Effect of cooking and amino acid supplementation on the nutritive value of black beans (Phaseolus vulgaris)". Brit. J. Nutr., 17(1): 69-78. 1963
15. _____; y L. G. Elías. "Legume foods". En: New protein foods, vol. 1st. Technology. Aaron M. Altschul ed. New York. Academic Press. 1974. pp. 230-294.
16. _____. "Legume in human diets and how they might be improved". Nutritional improvement of food legumes by breeding. Based on proceedings of a symposium sponsored by the Protein Advisory Group - PAG. Held at the Food Agriculture Organization - from the 3rd-5th of July in Rome, Italy. Edited by Max Milner. John Wiley and Sons Inc., New York, 1975. pp. 15-42.
17. _____ y L. G. Elías. The nutritional role of polyphenols in beans. En: Polyphenols in cereals and legumes: proceeding of a symposium held during the 36th annual meeting of the Institute of Food Technologist. St. Louis Missouri. 10-13 June 1979. Ed. Joseph Hulse. Ottawa, Ontario, IDRC, 1980. pp. 61-80.
18. Burr, H.K., S. Kon y H. J. Morris. "Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content and temperature and time of storage". Food Tech., 22: 336-338. 1968.
19. Bustamante, J.A. "Evaluación de factores físicos y bioquímicos en 20 variedades de "Phaseolus vulgaris"". Tesis (Licenciatura - Química Biológica) Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala. 1980. 95 p.
20. Crean, D.E. y D. R. Haisman "The interaction between phytic acid and divalent cations during cooking dried peas". J. Sci Food Agri., 14: 824-833. 1963.
21. Daniel, L. y L. C. Norris. "The riboflavin, niacin and thiamine content of leguminous seed". J. Nutr., 30: 31-36. 1945.
22. De Freitas de Ruiloba, E. "Efecto de diferentes condiciones del almacenamiento sobre las características físico-químicas y nutricionales del frijol (Phaseolus vulgaris)". Tesis (Magister Scientifcae) - Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia - INCAP - CESNA - Curso de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guatemala, 1973. 90 p.
23. Eichelberger, M. The Carbohydrate content of navy beans". J. Am. Chem. Soc., 44: 1407-1408. 1922.
24. Elías, L. G., R. Bressany y Marina Flores. "Los problemas potenciales en el almacenamiento y procesamiento de las leguminosas de grano comestible en América Latina. En: El potencial del frijol y otras leguminosas de grano comestible en América Latina. Trabajo presentado durante el congreso realizado en Cali, Colombia del 26-II al 1-III, 1973. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). pp. 32-48.
25. _____, D.G. de Fernández y R. Bressani. "Possible effect of seed coat polyphenol on the nutritional quality of bean protein". J. Food Sci., 44: 524-527. 1979.
26. _____. "Conocimientos actuales sobre el proceso de endurecimiento. Presentado en: El problema del endurecimiento del frijol común (Phaseolus vulgaris), celebrada durante la XXXVI Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el mejoramiento de Cultivos Alimenticios (PCCMCA). Santo Domingo, República Dominicana, Marzo 23-27, 1981. /Guatemala, INCAP, 1981/ 50 P. (Mimeografiado).
27. Eskin, N.A.M., A.M. Henderson y R. J. Townsend, Biochemistry of Foods. New York, Academic Press, 1971. Chapter 3. pp. 69-83.
28. Evans, R. y D. Bawer "Studies of the utilization of the rat of methionine and cystine in heated dry beans seed (Phaseolus vulgaris)". J. Agric. Food. Chem., 26 (4):779-784. 1978.
29. Fernández, D. de Estudios sobre los posibles efectos de los pigmentos de frijol sobre la calidad nutricional de la proteína. Tesis (Magister Scientifcae) - Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia INCAP/CESNA - Curso de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guatemala, 1973. 41 p.
30. Fernández, G.R. "Factores antinutricionales en semilla de leguminosa (Phaseolus vulgaris) y su posible relación con el contenido de taninos y polifenoles asociados". Tesis (Licenciatura Química Biológica) Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1979. 71 p.
31. Flores, M., A. Flores, y M. Y. Lara. "Food intake of Guatemala Indian Children Ages 1-5". J. Amer. Dietet. Assoc. 58:480-487. 1966.
32. _____; M. T. Menchú, Marta Yolanda Lara y M. A. Guzmán "Relación entre la ingesta de calorías y nutrientes en preescolares y la disponibilidad de alimentos en la familia". Arch. Latinoamericana. Nutr., 20: 41-58. 1970.

33. _____; R. Bressani y L.G. Elías. Factores y tácticas que influyen en los hábitos alimentarios del consumidor. En: El potencial del frijol y otras leguminosas de grano comestible en América Latina. Trabajo presentado durante el congreso realizado en Cali, Colombia del 26-II al 1-III, 1973. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). pp. 49-64.
34. Flurkey, W. H. y J. J. Jen. "Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches". J. Food Sci., 43: 1826-1831. 1978.
35. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Legumes in human nutrition. Report of the FAO committee. Rome, Italy 1964. 139p.
36. Gleck, L. y M. Joslyn. "Effects of tannic acid and related compound on the absorption utilization of protein in the rat". J. Nutr., 100: 516-520, 1970.
37. Gloyser, W.G. "Selerema and hardshell, two types of hardness of beans". Proc. Am. Assoc. Offic. Seed. Analist., 13: 60-64. En M.C. Bourne "Size Density and hardshell in dry beans". Food Tech., 10(5): 225-229. 1956.
38. González de Fernández, D. "Estudio sobre las posibles relaciones entre los pigmentos presentes en la cáscara de frijol y el valor nutritivo de éste". Tesis Magister Scientifcae)- Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. INCAP/CESNA. Curso Post grado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Guatemala, 1975. 77p.
39. Gupa, R. K. y E. Haslam. Vegetable tannins- Structure and Biosynthesis. Polyphenols in cereals and legumes: proceeding of a symposium held during the 36th annual meeting of Food Technologist, St. Louis Missouri. 13-16June. 1979. Ed. Joseph - Hulse. pp. 15-24.
40. Haslam, E. Chemistry of vegetable tannins. New York, Academic - Press Inc. 1966. pp. 32-38.
41. Hellendoorn, E.W. "Intestinal effects following ingestion of beans". Food Technol, 23: 87. 1969.
42. _____. "Carbohydrate digestibility and flatulence activity of beans" In: "Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods". Proceedings of a meeting held Riberao Preto, S. P. Brazil, November 6-9.1973. Editor Laffe/Caracas, Venezuela, Arch. Latinoam. Nutr. n.d. / pp. 261-271.
43. Hernández B. Los Problemas de producción y potenciales del frijol (Phaseolus vulgaris) en el trópico bajo. En: El potencial del frijol y otras leguminosas de grano comestible en América Latina. Trabajo presentado durante el congreso realizado en Cali, Colombia del 26-II al 1-III 1973. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia Pp. 90-94.
44. Hernández E. Significado de la presencia de taninos y polifenoles - asociados en la digestibilidad de las proteínas del frijol en humanos. Tesis (Magister Scientifcae) Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. INCAP/CESNA. Curso de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guatemala 66. p. 1980.
45. Hulse, J. H.; E.O, Rachie and L.W. Billingsly. Nutritional standards and methods of evaluation for legume breeders. Ottawa , Canadá. 1977. IDRC- TS7e.
46. INCAP. Evaluación nutricional de la población de Centro América y Panamá, Guatemala. /Editado por el /INCAP, Oficina de Investigaciones Internacionales de los Institutos Nacionales de Estados Unidos y el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, Guatemala, 1969. 136 p.
47. Jaffé, W. G. "Limiting essential amino acids of some legume seeds". Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71 398-399. 1949
48. _____. "El valor biológico comparativo de algunas leguminosas de importancia en la alimentación venezolana". Arch. Venez. Nutr., 1: 107-126. 1950.
49. _____ y K. Hanning. "Fraction of protein from kidney beans - (Phaseolus vulgaris). Arch. Biochem. Biophys., 109: 80-87, 1965.
50. _____. "Factores tóxicos en leguminosas". Arch Venez. Nutr., 18: 205-218. 1968.
51. _____ y C. Vega. "Heat labile growth-inhibiting factor in beans". J. Nutr., 94: 203-209.
52. _____. "Las semillas de leguminosas como fuente de proteína - en América Latina". En : "Recursos proteicos de América Latina". M. Béhar y R. Bressani eds. Guatemala, INCAP, - 1970. pp. 228-241.
53. Kon, S. "Pectic substances of dry beans and their possible correlation with cooking time". J. Food Sci., 33: 427. 1968
54. Kunitz, M. "Crystallization of trypsin inhibitor. Science, 101: 668 - 669 . 1945.
55. _____. "Crystalline soybean trypsin inhibitor. II General properties". J. Ge. Physiol., 30: 291-310. 1947.

56. Liener, I. E. "Effect of heat on plant proteins". En: Processed plant protein foodstuffs. Aaron M. Altschul. ed. New York, - Acedemic Press 1958. pp. 78-129
57. _____ "Toxic factors in edible legumes and their elimination" Am. J. Clin. Nutr., 11: 281-290, 1962.
58. Linares, S y M. Mendoza de Bosque. Evaluación de estándares nutricionales y tecnológicos de 20 variedades de Phaseolus vulgaris. Tesis (Magister Scientifcae) - Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia- - INCAP/CESNA- Curso de postgrado en Ciencia y Tecnología - de Alimentos. Guatemala, 1979. 62 p.
59. Lolas, G. M. y P. Markakis. "Phytic acid and other phosphorus - Compounds of beans (Phaseolus vulgaris, L.)" Agric. Food. Chem., 23: 13. 1975.
60. _____; y P, Markakis. "The phytase of havy beans (Phaseolus vulgaris)" J. Food Sci., 42: 1094 y 1106. 1977.
61. Marguardt, R. ; A. Ward, L. Campbell y P. Cansfield "Purification and characterization of a growth inhibitor in faba beans (Vicia-faba L. Varminor)". J. Nutr., 107: 1313-1324. 1977
62. McLeod, M. N. "Plant tannins; their role in forage quality". Nutr. Abstr. Rev., 44(11): 804-815.
63. Mejía E. G. de, L. G. Elías y: R Bressani. "Estudio sobre el problema de endurecimiento de frijol por almacenamiento prolongado. En: Memoria Vol. III. Programa Cooperativo Centroamericano para el mejoramiento de Cultivos Alimenticios - (PCCMCA), Tegucigalpa, Honduras, 1979.
64. _____; "Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de la dureza del frijol. Presentado en: El problema del endurecimiento del frijol común (Phaseolus vulgaris)". Celebrado durante la XXXVI Reunión anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos Alimenticios (PCCMCA), Santo Domingo, República Dominicana, Marzo 23-27, 1981/Guatemala, INCAP, 1981/20 p (Mimeografiado).
65. Miranda, M. H. "Algunos aspectos relacionado a introducción de nuevas variedades o especies de leguminosa de grano en Centro América." Arch. Latinoam. Nutr., 27(2): 18-26. 1977.
66. Molina. M. R.; F. Trent y R, Bressani. "Studies on the biodegradation of the black bean (Phaseolus vulgaris)". J. Food Sci. 41: 661-666, 1976.
67. _____; G. de la Fuente y R. Bressani. "Interrelación entre el tiempo de remojo, tiempo de cocción, valor nutritivo y otras características del frijol (Phaseolus vulgaris)". Arch. Latinoam. de Nutr., 24: 469-483.
68. _____; M. A. Baten, B. Gómez, K, W. King y R. Bressani. - Heat treatment: a process to control the development of the hard-to-cook phenomenon in black beans (Phaseolus vulgaris). J. Food Sci., 41: 661. 1976.
69. Morris, H. J. y E. R. Wood. "Influence of moisture content on keeping quality of dry beans". Food Tech., 10 (5): 225-229. 1956.
70. Munet, P. "The cooking time of dry beans after extended storage". Food Tech., 18: 1240-1241. 1964.
71. O'Dell, B. L. y A. de Boland. "Complexation of phytate with protein and cations in corn germ and oilseed meals". J. Agr. Food Chem. 24: 804-808.
72. Paterson, W.H. y H. Churchill. "The carbohydrate content of navy bean". J. Amer. Chem. Soc., 43: 1180-1185. 1921.
73. Powrie, W.D. ; M.W. Adams y I.J. Pflug. "Chemical, anatomical, and histochemical studies on the navy bean seed". Agrn. J. 5: 163-167. 1960
74. Price, M. L. ; S. Van Scogoc y L.G. Buttle. "A critical evaluation of the vanillin reaction as assay for tannin in sorghum grain". J. Agric. Food Chem., 26(5): 1214-1218. 1978.
75. Rackis, J.J.; D. H. Honng, D. J. Sessa y F. R. Steggerda. "Flavos and flatulence factors in soya bean protein products". J. Agric. Food Chem., 18: 977-982. 1970
76. Reyes, P. y B. S. Luh. "Characteristics of browning enzymes in Fay Elberta Freestone Peaches". Food Tech., 32: 570-574. - 1960.
77. Rockland, B. "Saturated salt solution for static control of relative humidity between 5° and 4°C". Analytical Chem., 32(10):1375-1376. 1960.
78. Rowhyte, G.; N. Leissner y H. Trumble. "Las leguminosas en la agricultura". 2 Ed. FAO 1968 Yugoslavia. 33 p.
79. Sefa-Deden, S.; D.W. Staley and P.W. Vosisey. "Effect of soaking time and cooking condition on texture and microstructure of cowpeas (Vigna unguiculata)". J. Food Sc. 43:1832-1838. 1978.
80. _____; D.W. Stanley. The relationship of microstructure of cowpeas to water absorption and dehullin properties. Cereal Chem. 56(4): 379-386. 1979.
81. _____, D.W. Stanley. Textural implication of microstructure

- of legumes. Food Tech. 33(10): 77-83. 1979.
82. Sgarbieri, V.C.; P. L. Antunes y L. D. Alameida. "Nutritional evaluation of four varieties of dry beans". J. Food Sci., 44(5): 1306-1309. 1979.
 83. Singh, S.; H.D. Sing y K.C. Sikka. "Distribution of nutrients in the anatomical parts of common Indian Pulses". Cereal Chem., 45: 13-18.
 84. Steggerda, F. R.; G.A. Richards y J.J. Rackis. "Effect of various soya beans products on flatulence in adult man". Proc. Soc. - Exp. Biol. Med., 121: 1235-1239. 1966.
 85. _____ y J.F. Dimmick. "Effects of bean diets on concentration of carbon dioxide in flatus". Am. J. Clin. Nutr., 19: 120-124 1966.
 86. Takayama. P. K. ; P. Muneta y A.C. Wiese. "Lipid composition of dry beans and its correlation with cooking time". J. Agr. Food Chem., 13: 269-272. 1965.
 87. Tamber, H.; B.B. Kerschaw y R.D. Wriyth. "Studies on growth inhibitors fraction of lima beans and isolated crystalline heat stable inhibitors". J. Biol. Chem., 179: 1155-1161.
 88. Wagner, L.P. y J.P. Riehm. "Purification and partial characterization of trypsin inhibitor isolated from the navy bean". Arch. - Biochem. Biophys., 121: 672-677. 1967.
 89. Weston, W. T. and H.T. Morris. Hygroscopic equilibrium of dry beans" Food Technol., 88: 353-355. 1954.
 90. Whitaker, J.R. Principles of enzymology for the food science. Marcel Dekker Inc. New York. 1972. pp. 572-581.
 91. Wilson, C. y W. Loomis. Botany 3rd edition 1966. Winston U. S. A. 1966. 573 p.
 92. Wilks, S. S. Elementary Statistica Analysis. Princeton University Press, U.S.A. 1949. 284 p.
 93. Zimmerman, G.; S. Weissman y S. Yannai. "The distribution of protein, lysine and methionine, and antitryptic activity in the cotyledons of some leguminouse seeds". J. Food Sci., 32: 129-130. 1967.

XIII. ANEXOS

CUADRO 1

EQUIVALENTES DE CATEQUINA EN DOS VARIETADES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*)
SOMETIDO A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
(mg/g)

Condiciones de Almacenamiento		Frijol negro		Frijol rojo	
		\bar{X}	Significancia (P)	\bar{X}	Significancia (P)
Atmósfera	Aire	4.66	0.0245	16.07	N. S.
	CO ₂	5.37		15.94	
Humedad	9%	5.44	N. S.	15.88	N. S.
	13%	4.59		16.11	
Temperatura	4°C	6.37	<0.0001	17.42	0.0038
	20°C	5.52		16.38	
	36°C	3.16		14.18	
Tiempo	2 meses	6.22	<0.0001	16.37	N. S.
	4 meses	5.52		15.56	
	6 meses	4.79		16.04	

N. S. = No Significativo (P > 0.05)

Condición de Almacenamiento	Frijol negro		Frijol rojo	
	\bar{X}	Significancia (P)	\bar{X}	Significancia (P)
Aire	7.68	0.0002	15.82	0.0006
Atmósfera CO ₂	9.76		12.83	
Humedad 9%	8.63	N.S.	14.77	N.S.
Humedad 13%	8.81		13.88	
Temperatura 4°C	7.31	0.0002	13.81	0.0155
Temperatura 20°C	9.18		15.77	
Temperatura 36°C	9.67		13.39	
Tiempo 2 meses	9.96	0.0002	13.63	N.S.
Tiempo 4 meses	8.72		14.14	
Tiempo 6 meses	7.47		15.21	

N. S. = No Significativa (P > 0.05)

ACTIVIDAD DE LA ENZIMA POLIFENOL OXIDADA (PFO) EN DOS VARIETADES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*) BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO (unidades de PFO/mg proteína x minuto)

CUADRO 2

CUADRO 3

CONTENIDO DE PROTEINA EN DOS VARIETADES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*) SOMETIDO A DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO (g/100 g muestra)

Condiciones de Almacenamiento	Frijol negro		Frijol rojo	
	\bar{X}	Significativa (P)	\bar{X}	Significativa (P)
Aire	22.26	N.S.	23.87	N.S.
Atmósfera CO ₂	22.18		24.04	
Humedad 9%	22.39	0.0187	24.45	< 0.0001
Humedad 13%	22.05		23.42	
Temperatura 4°C	22.47	N.S.	23.99	N.S.
Temperatura 20°C	22.08		23.87	
Temperatura 36°C	22.11		23.95	
Tiempo 2 meses	22.15	N.S.	23.89	N.S.
Tiempo 4 meses	22.15		24.22	
Tiempo 6 meses	22.36		23.71	

N. S. = No Significativa (P > 0.05)

Condiciones de Almacenamiento	Frijol negro		Frijol rojo	
	\bar{X}	Significancia (P)	\bar{X}	Significancia (P)
Atmósfera	Aire	1027	1087	N.S.
	CO ₂	1033	1098	N.S.
	9%	1028	1096	N.S.
Humedad	13%	1032	1088	N.S.
	4°C	1024	1090	N.S.
	20°C	1027	1089	N.S.
Temperatura	36°C	1039	1098	N.S.
	2 meses	1003	1057	
	4 meses	1026	1080	
Tiempo	6 meses	1060	1140	0.0010

* Datos analizados a partir de los resultados obtenidos por De Mejía, E. (63).

N.S. = No Significativo ($P > 0.05$)

CUADRO 4

EFFECTO DE DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL DESARROLLO DEL PROCESO DE ENDURECIMIENTO DEL FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*) *
(Unidades de fuerza)

5 CUADRO

EFFECTO DE DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL TIEMPO DE COCCION DE DOS VARIETADES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*) *
(Tiempo de cocción en min)

Condiciones de Almacenamiento	Frijol rojo		Frijol negro	
	\bar{X}	Significancia (P)	\bar{X}	Significancia (P)
Atmósfera	Aire	139.8	65.7	N.S.
	CO ₂	123.6	58.9	N.S.
	9%	118.1	57.6	N.S.
Humedad	13%	144.9	67.0	0.0003
	4°C	115.7	50.3	
	20°C	136.3	57.1	
Temperatura	36°C	142.5	79.5	
	2 meses	125.2	55.7	0.0161
	4 meses	125.3	58.7	
Tiempo	6 meses	154.7	72.4	

* Datos analizados a partir de los resultados obtenidos por De Mejía, E. (63).

N.S. = No Significativo ($P > 0.05$)

Análisis Realizado en Semilla	Interacción	Frijol negro	Frijol rojo
		Valor de (P)	Valor de (P)
Contenido de proteína (%)	Temperatura x tiempo Humedad x tiempo Temperatura x humedad Temperatura x tiempo x humedad	6720.0 N. S.	5410.0 N. S.
		1000.0 N. S.	5000.0 N. S.
Equivalente de cafeína (mg)	Temperatura x tiempo Humedad x tiempo Temperatura x humedad Temperatura x tiempo x humedad	0.388 N. S.	0.0 N. S.
		0.365 N. S.	0.0 N. S.
Act. Oxidativa (U/g)	Temperatura x tiempo Humedad x tiempo Temperatura x humedad Temperatura x tiempo x humedad	0.100 N. S.	0.0 N. S.
		0.800 N. S.	0.0 N. S.
Análisis de semilla	Interacción	6720.0 N. S.	5410.0 N. S.
		1000.0 N. S.	5000.0 N. S.

EFFECTO DE LAS DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO SOBRE EL COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA DE DOS VARIEDADES DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*)*

7 ORDINA

CUADRO 6

Condiciones de Almacenamiento	Frijol negro		Frijol rojo	
	\bar{X}	Significancia (P)	\bar{X}	Significancia (P)
Aire	205.1	N. S.	187.7	N. S.
Atmósfera CO ₂	202.3	N. S.	184.1	N. S.
Humedad 9%	205.6	N. S.	181.4	0.0421
Humedad 13%	201.7	N. S.	189.8	0.0421
Temperatura 4°C	203.3	N. S.	186.3	N. S.
Temperatura 20°C	202.4	N. S.	187.9	N. S.
Temperatura 36°C	205.2	N. S.	182.6	N. S.
Humedad 2 meses	205.1	N. S.	190.1	N. S.
Humedad 4 meses	203.4	N. S.	186.0	N. S.
Humedad 6 meses	202.4	N. S.	179.4	N. S.

* Datos analizados a partir de los resultados obtenidos por De Mejía, E. (63).
N. S. = No Significativo (P > 0.05)

*Datos tomados de De Mejía, E. (63)
 N.S. = No Significativo ($P > 0.05$)

Análisis Realizados	Interacción	Frijol negro Valor de (P)	Frijol rojo Valor de (P)
Dureza (Unidades fuerza)	Atmósfera x Tiempo	N.S.	0.0585
Tiempo de cocción (minutos)	Temperatura x Tiempo	N.S.	0.0142
Coefficiente de absorción de agua (%)	Atmósfera x Humedad	N.S.	0.0594

CUADRO 8

INTERACCIONES DOBLES PARA LOS PARAMETROS FISICOS Y TECNOLOGICOS ANALIZADOS EN DOS VAIEDADES DE FRIJOL COMUN (Phaseolus vulgaris) BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO *

CUADRO 9

ANALISIS DE REGRESION ENTRE EL COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA Y LOS PARAMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEINA Y DUREZA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD NEGRO SUCHITAN

Dependiente C. Absorción Independientes	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalente de Catequina	-0.016 (4) ^b	0.295 (2)	-0.433 (1)
PFO	-0.099 (3)	0.589 (1)	0.078 (4)
Proteína	0.381 (2)	-0.005 (4)	-0.168 (3)
Dureza	-0.639*(1)	0.0167 (3)	-0.294 (2)

* Significativo $P > 0.05$

a - Contribuciones marginales de cada variable considerando las demas constante en forma estandarizada.

b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

Dependiente Dureza Independientes	Tiempo en Meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalentes de Catequina	0.040 (3) ^b	-0.160 (2)	-0.640* (1)
PFO	0.020 (4)	-0.080 (3)	0.060 (4)
Proteína	0.028 (2)	0.041 (1)	0.480 (2)
Coefficiente de absorción de agua	0.700*(1)	0.020 (4)	0.140 (3)

* Significativo $P > 0.05$

^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada.

^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

Dependiente T. de cocción Independiente	Tiempo en Meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalentes de Catequina	-0.550 (1) ^b	-1.190* (1)	-0.900* (1)
PFO	-0.106 (3)	-0.423 (2)	-0.060 (5)
Proteína	0.047 (4)	-0.214 (4)	-0.138 (3)
Coefficiente de absorción de agua	-0.151 (2)	0.008 (5)	0.094 (4)
Dureza	-0.017 (5)	-0.295 (3)	-0.178 (2)

* $P < 0.05$

^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada

^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

CUADRO 10

ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE DUREZA Y LOS PARÁMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEÍNA Y COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE AGUA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD NEGRO SUCHITAN

CUADRO 11

ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE TIEMPO DE COCCIÓN Y LOS PARÁMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEÍNA, COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE AGUA Y DUREZA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD NEGRO SUCHITAN

Independiente	Dependiente Equiv. Cateq.		
	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
PFO	-0.077 (3) ^b	-0.679* (1)	-0.281 (1)
Proteína	0.230 (1)	-0.259 (2)	-0.098 (3)
Coefficiente de absorción de agua	-0.088 (2)	0.199 (3)	-0.243 (2)

* Significativo P < 0.05

^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada

^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los meses de almacenamiento.

CUADRO 12

ANÁLISIS DE REGRESION ENTRE EQUIVALENTES DE CATEQUINA Y LOS PARAMETROS PFO, PROTEINA Y COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD NEGRO SUCHITAN

CUADRO 13

ANÁLISIS DE REGRESION ENTRE EL COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA Y LOS PARAMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEINA Y DUREZA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD ROJO SEDA

Independientes	Dependiente C. Absorc.		
	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalentes de Catequina	-0.263 (2) ^b	0.157 (2)	0.350 (2)
PFO	-0.175 (4)	0.143 (3)	-0.194 (4)
Proteína	-0.352 (1)	0.125 (4)	-0.220 (3)
Dureza	0.196 (3)	-0.786 (1)	-0.376 (1)

^a Contribuciones marginales a cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada.

^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

- ^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada.
- ^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

Dependiente / Independiente	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalentes de Catequina	0.124 (3) ^b	0.117 (4)	0.373 (2)
PFO	0.502 (1)	0.337 (3)	-0.123 (3)
Proteína	0.099 (4)	0.421 (2)	-0.015 (1)
Coefficiente de absorción de agua	0.169 (2)	0.584 (1)	-0.562 (1)

55

ANÁLISIS DE REGRESION ENTRE DUREZA Y LOS PARAMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEINA Y COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD ROJO SEDA

CUADRO 14

51 OADR

ANÁLISIS DE REGRESION ENTRE TIEMPO DE COCCION Y LOS PARAMETROS EQUIVALENTES DE CATEQUINA, PFO, PROTEINA, COEFICIENTE DE ABSORCION DE AGUA Y DUREZA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD ROJO SEDA

Dependiente / Independiente	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Equivalentes de Catequina	-0.0935 (5) ^b	-0.866* (1)	-0.437 (1)
PFO	-0.120 (4)	0.093 (5)	0.399 (2)
Proteína	0.174 (3)	-0.434 (3)	-0.289 (3)
Coefficiente de absorción de agua	0.567 (1)	0.556 (2)	0.117 (4)
Dureza	0.212 (2)	0.401 (4)	-0.029 (5)

59

* Significativo $P < 0.05$

- ^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada.
- ^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

- ^a Contribuciones marginales de cada variable considerando las demás constantes en forma estandarizada.
- ^b Número entre paréntesis significa el orden de importancia del análisis efectuado en los diferentes meses de almacenamiento.

Depend. Equival. Cat.	Tiempo en meses		
	2 meses Beta ^a	4 meses Beta ^a	6 meses Beta ^a
Independiente			
PFO	-0.0001 (3) ^b	0.033 (3)	0.405 (2)
Proteína	-0.379 (1)	-0.133 (2)	-0.259 (3)
Coefficiente de absorción de agua	-0.239 (2)	0.134 (1)	0.444 (1)

ANÁLISIS DE REGRESION ENTRE EQUIVALENTES DE CATEQUINA Y LOS PARÁMETROS PFO, COEFICIENTE DE ABSORCIÓN DE AGUA Y PROTEÍNA EN Phaseolus vulgaris VARIEDAD ROJO SEDA

CUADRO 16

CUADRO 17

RESUMEN DE LAS REGRESIONES MÚLTIPLES OBTENIDAS PARA FRIJOL NEGRO Y FRIJOL ROJO

Meses de Almacenamiento	Frijol negro		Frijol rojo			Ambas variedades			
	2	4	9	2	4	9	2	4	9
Coefficiente de absorción H ₂ O	dur*	PFO ¹	cat ²	prot ³	dur ⁴	dur	cabs ⁵	prot	cabs
Dureza	cabs*	prot	cat*	PFO	cabs ⁵	cabs	cabs*	prot	cat
Tiempo de cocción	cat	cat*	cat*	cabs	cat*	cat	cat*	cat*	cat
Catequina	prot	PFO*	PFO	prot	cabs	cabs			

* Significativo, P < 0.05

1 PFO = Actividad de la enzima Pflifenoloxidasa

2 cat = Equivalentes de Catequina

3 prot = % de proteína

4 dur = Dureza

5 cabs = Coeficiente de absorción de agua

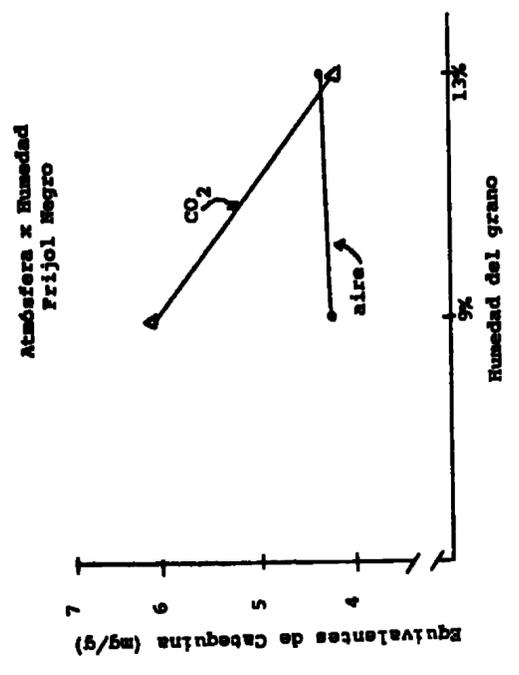
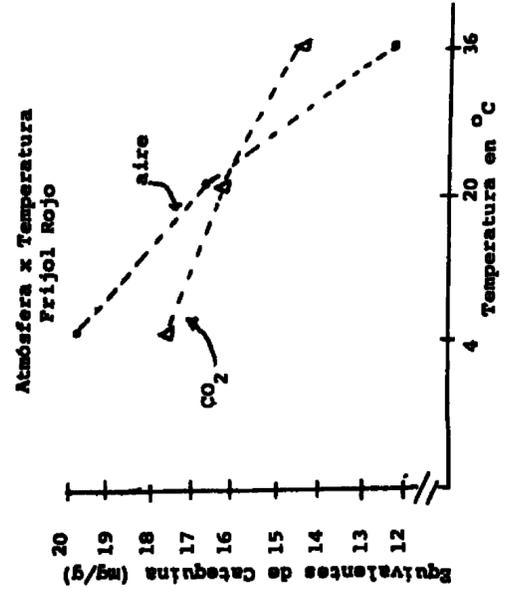
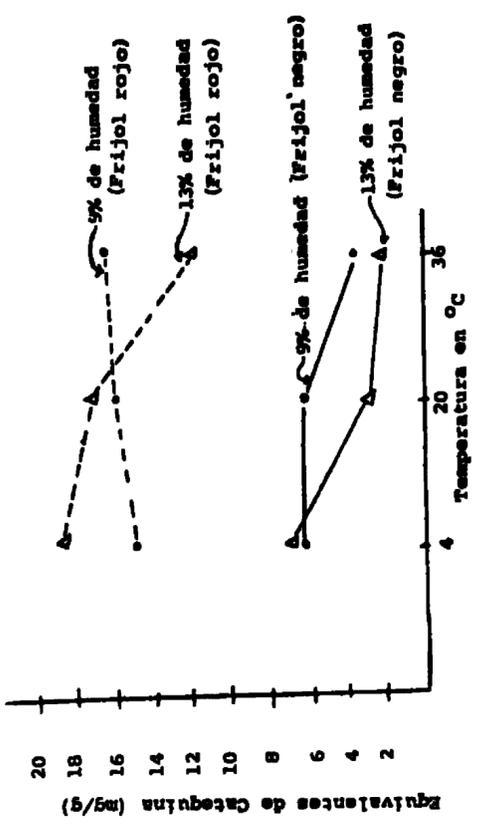
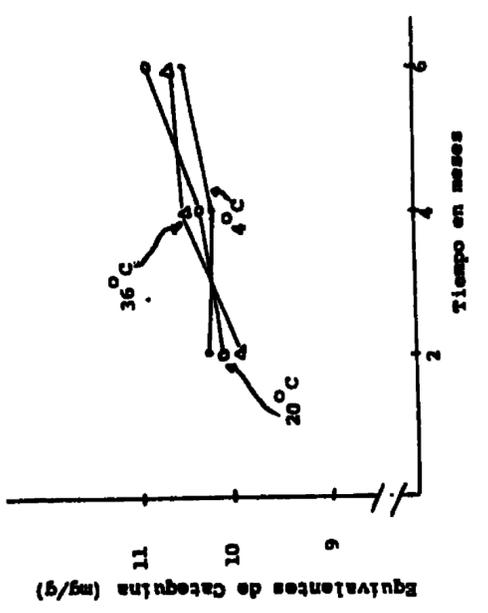
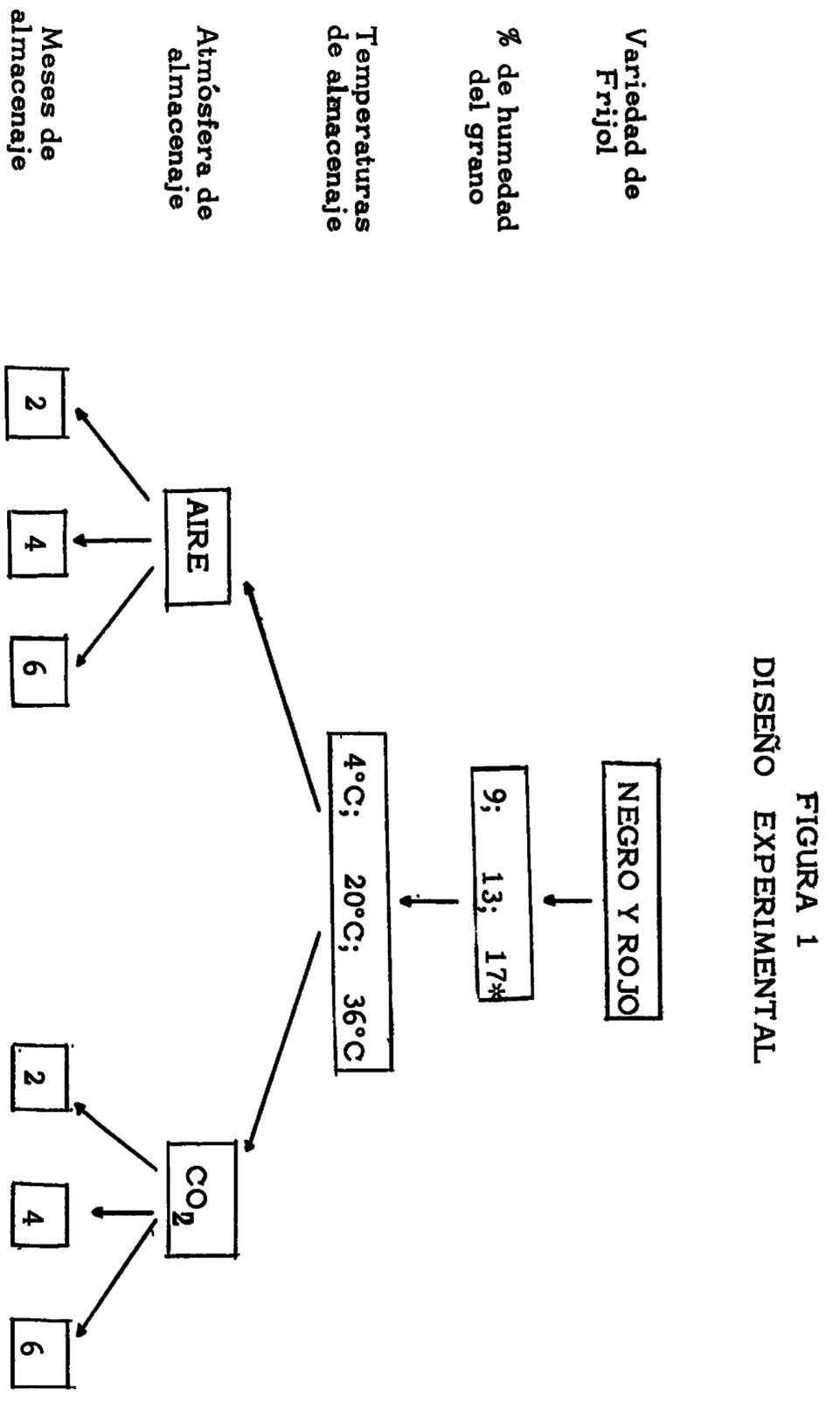


FIGURA 2 DOBLES INTERACCIONES PARA EQUIVALENTE DE CATEQUINA (mg/g)



* Las muestras almacenadas al 17% de humedad del grano, aunque están consideradas en el diseño experimental, no se analizaron debido que mostraron crecimiento de *Aspergillus* sp.

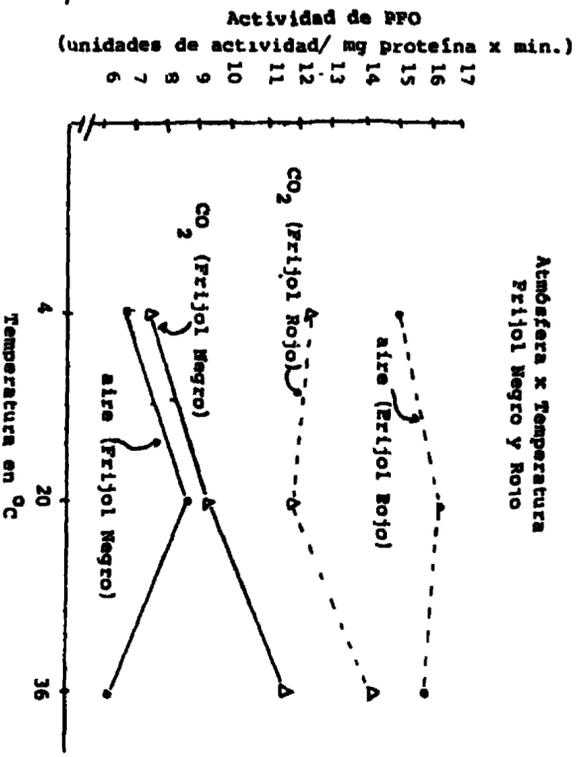
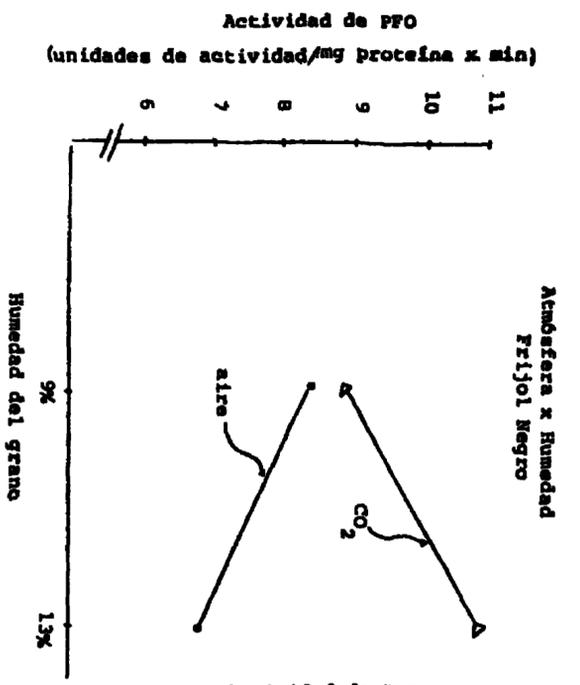
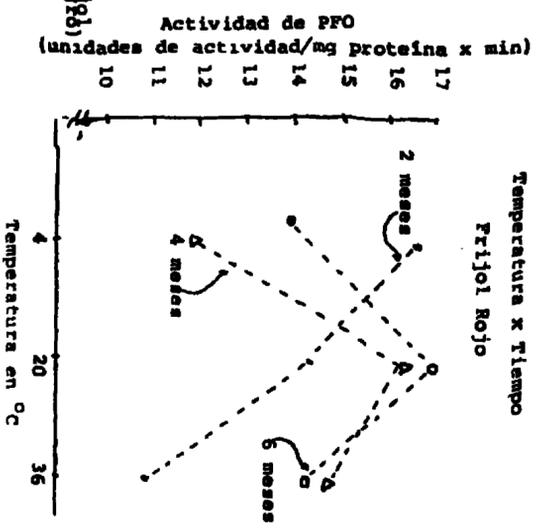
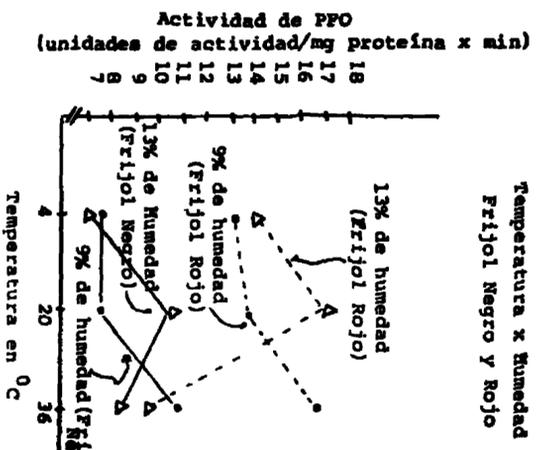
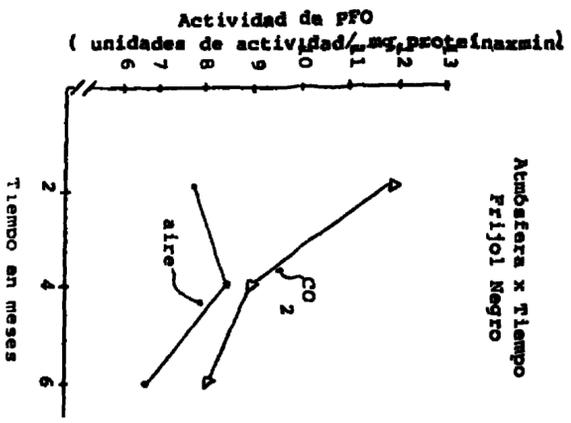
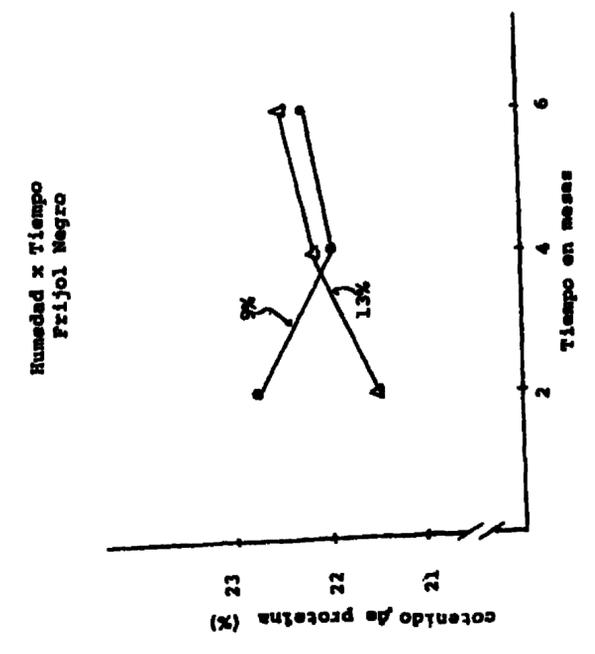
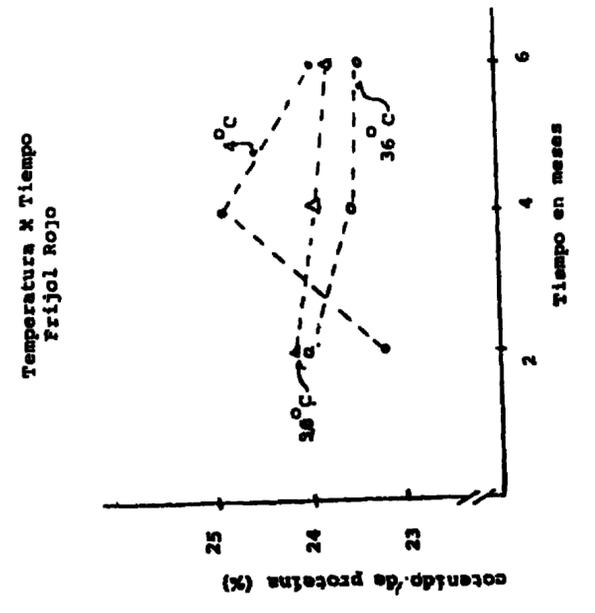
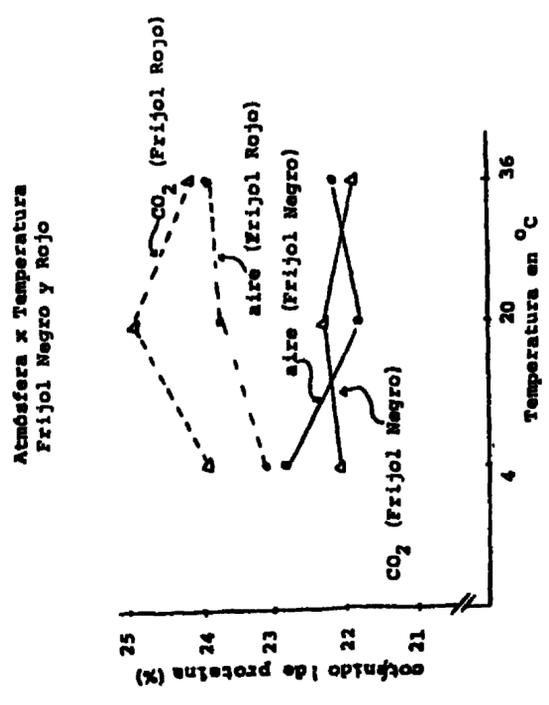
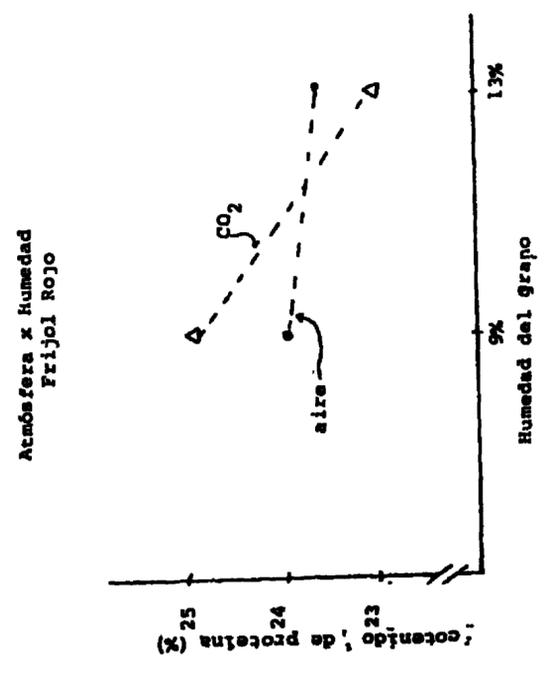


FIGURA 3 DOBLES INTERACCIONES PARA PFO (unidades de actividad/mg proteína x min)

FIGURA 4 DOBLES INTERACCIONES PARA CONTENIDO DE PROTEINA (%)



Beatriz Alcahí
 Beatriz Eugenia Alcahí Behar

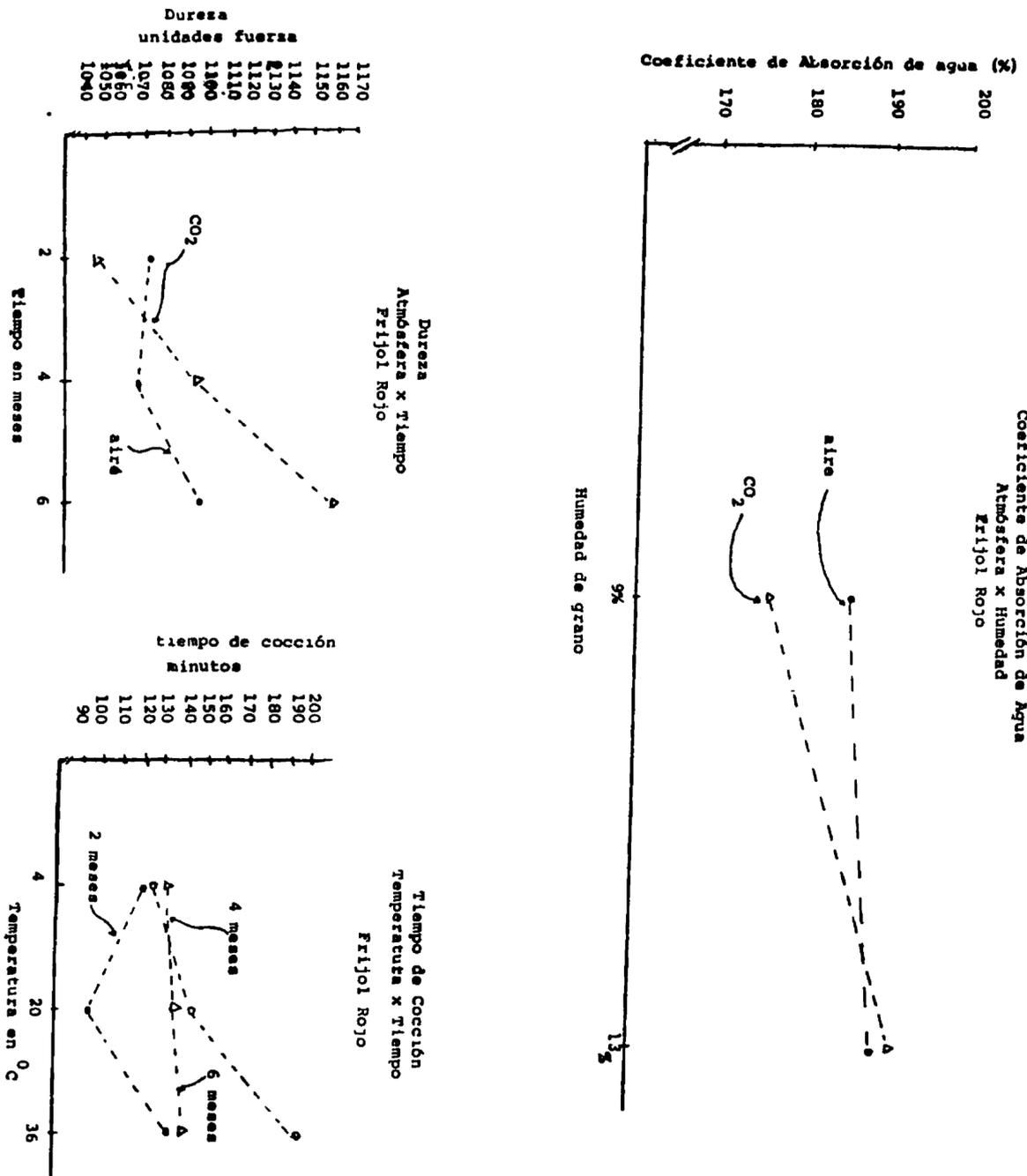
Luiz G. Elías
 Dr. Luiz G. Elías
 Asesor

J. Edgar Braham
 Dr. J. Edgar Braham
 Asesor

José Hector Aguilar
 Dr. José Hector Aguilar
 Director. Escuela de Química
 Biológica

Leonel Carrillo
 Lic. Leonel Carrillo
 Decano. Fac. C.C.Q.Q. y
 Farmacia

FIGURA 5
 DOBLES INTERACCIONES PARA LOS ANALISIS FISICOS *



* Datos analizados a partir de los resultados obtenidos por de Mejía (63)