

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

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTROAMERICA Y PANAMA

**IMPORTANCIA DE ALGUNOS FACTORES SOBRE LA DIGESTIBILIDAD
DE LAS PROTEINAS DEL FRIJOL (Phaseolus vulgaris)
Y DE SUS AMINOACIDOS EN HUMANOS ADULTOS**

**Tesis elaborada por
ADRIANA BLANCO DE ARAYA
Previo a optar al grado de
MAESTRO
(MAGISTER SCIENTIFICAE)**

**CURSO DE POSTGRADO EN CIENCIAS Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
CENTRO DE ESTUDIOS SUPERIORES EN NUTRICION Y CIENCIAS DE ALIMENTOS
CESNA**

Guatemala, abril de 1983

INCAP T-371

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

DECANO	Dr. José Héctor Aguilar Arreola
Secretario	Lic. Leonel Carrillo Reeves
Vocal Primero	Lic. Luis Fernando Girón Rodos
Vocal Segundo	Lic. Francisco Monterroso S.
Vocal Tercero	Dr. Mario R. Molina
Vocal Cuarto	Dr. Sergio Molina Mejía
Vocal Quinto	Dr. Héctor Oliveros Pons

COMITE INTERINSTITUCIONAL DEL CESNA

Director del CESNA	Dr. Luis Octavio Angel
Decano de la Facultad de Ciencias Médicas	Dr. Mario M. Cámara
Decano de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia	Dr. José Héctor Aguilar A.
Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia	Dr. Luis Rosales
Director de la Escuela de Nutrición	Dr. Luis Octavio Angel
Director del Curso de Postgrado en Salud Pública con Énfasis en Nutrición y Maternoinfantil	Dra. América de Fernández
Director del Curso de Postgrado en Bioquímica y Nutrición Humana	Dr. Oscar Pineda
Director del Curso de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos	Dr. J. Edgar Braham

COMITE ASESOR DE TESIS

Dr. Ricardo Bressani

Dra. Delia A. Navarrete

Dr. Roberto Gómez-Brenes

Dr. Luiz G. Elías

DEDICO ESTA TESIS

A quienes amo:

Dios

A mi esposo Juan José Araya Gutiérrez

**A mis padres Alfredo Blanco Arroyo y
Elena Metzler de Blanco**

**A mis hermanas Helga Blanco de Mesén
Elizabeth Blanco de Colina**

A mi patria Costa Rica y

A la República de Argentina

AGRADECIMIENTO

A los Drs. Ricardo Bressani, Delia Navarrete, Roberto Gómez-Brenes y Luiz Elías quienes me brindaron su ayuda, amistad y asesoría de tesis.

A los Drs. Roberto Molina, América de Fernández y Edgar Braham por su amistad y cooperación.

Al Lic. Ricardo Sibriam por su desinteresada orientación estadística en la presente tesis.

A los amigos: Elvira de Orozco, Efraína de Zamora, Ma. Antonieta Rottman, Arnoldo García, Socorro Jiménez, Emérita Contreras y Olimpia Martínez.

A Enrique Amézquita, Carlos Calderón, Elma Herrera, Audel López y Hugo Paz por su valiosa ayuda.

A mis compañeros del Curso de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos.

Al personal de la División de Ciencias Agrícolas sin cuya colaboración no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Al personal profesional y técnico del INCAP.

A la familia Ruiz-Castanet que proporcionaron constantemente la ayuda moral y espiritual.

RECONOCIMIENTO

Al Ministry of Overseas Development, Reino Unido de la Gran Bretaña.

Al Bean/Cowpea Collaborative Research Support Program (CRSP)

Al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

A la Universidad de Costa Rica.

CONTENIDO

- I. INTRODUCCION
- II. REVISION DE LITERATURA
 - 1. Generalidades
 - 2. Factores antinutricionales
 - 2.1 Inhibidores de tripsina
 - 2.2 Hemaglutininas
 - 3. Taninos
 - 4. Fracciones proteicas resistentes a la hidrólisis
 - 5. Velocidad de paso a través del sistema gastrointestinal
 - 6. Procesamiento térmico
 - 7. Carbohidratos indigeribles
 - 8. Condiciones de almacenamiento
 - 9. El nitrógeno endógeno como posible fuente de proteína no digerida en dietas a base de frijol
- III. OBJETIVOS DEL ESTUDIO
- IV. MATERIALES Y METODOS
- V. RESULTADOS
- VI. DISCUSION
- VII. SUMARIO
- VIII. BIBLIOGRAFIA
- IX. APENDICE

LISTA DE CUADROS

- CUADRO 1 DISEÑO DEL PLAN DE ESTUDIO DE LAS DIETAS EVALUADAS
- CUADRO 2 COMPOSICION DE LAS DIETAS BASALES INGERIDAS POR DIA
- CUADRO 3 CARACTERISTICAS FISICAS DE LOS SUJETOS EXPERIMENTALES
- CUADRO 4 CONTENIDO DE INHIBIDORES DE TRIPSINA Y HEMAGLUTININAS EN LAS 3 VARIETADES DE FRIJOL CRUDO Y COCIDO
- CUADRO 5 ANALISIS DE TANINOS EN 3 VARIETADES DE FRIJOL Y PORCENTAJES DE REDUCCION POR COCCION
- CUADRO 6 CONTENIDO DE NITROGENO SOLUBLE E INSOLUBLE EN NaOH 0.02N Y PORCENTAJE DE NITROGENO DEL TOTAL EN FRIJOLES CRUDOS Y COCIDOS, EN DIETAS BASALES Y EN HECES
- CUADRO 7 FIBRA DIETETICA INSOLUBLE Y SOLUBLE Y PROTEINA DIGERIBLE E INDIGERIBLE EN FRIJOLES COCIDOS, DIETAS BASALES Y HECES DE ADULTOS HUMANOS
- CUADRO 8 LISINA DISPONIBLE EN FRIJOL FRITO Y SIN FREIR
- CUADRO 9 COMPOSICION DE AMINOACIDOS DE 3 VARIETADES DE FRIJOL (Phaseolus vulgaris)
- CUADRO 10 INGESTA DE NITROGENO Y DIGESTIBILIDAD APARENTE EN 3 VARIETADES DE FRIJOL
- CUADRO 11 DIGESTIBILIDAD VERDADERA DEL NITROGENO TOTAL DE 3 VARIETADES DE FRIJOL
- CUADRO 12 ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO- DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA DEL FRIJOL
- CUADRO 13 ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO- DIGESTIBILIDAD VERDADERA DEL NITROGENO TOTAL
- CUADRO 14 BALANCE DE NITROGENO EN HOMBRES ADULTOS DURANTE LA DLN Y LAS DIETAS DE FRIJOLES
- CUADRO 15 UTILIZACION PROTEICA NETA (NPU) EN INDIVIDUOS CONSUMIENDO DIETAS A BASE DE FRIJOL
- CUADRO 16 ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO- BALANCE DE NITROGENO
- CUADRO 17 ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO- UTILIZACION PROTEICA NETA
- CUADRO 18 VALOR BIOLOGICO EN INDIVIDUOS ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE FRIJOL COMUN

- CUADRO 19 ANALISIS DE VARIANZA- VALOR BIOLOGICO
- CUADRO 20 DIGESTIBILIDAD APARENTE DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH 0.02N EN DIETAS A BASE DE FRIJOL
- CUADRO 21 DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH 0.02N EN HUMANOS ADULTOS ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE FRIJOL
- CUADRO 22 ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO- DIGESTIBILIDAD APARENTE DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH
- CUADRO 23 ANALISIS DE VARIANZA- DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE N SOL NaOH
- CUADRO 24 DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA FIBRA DIETETICA TOTAL EN 3 VARIEDADES DE FRIJOL COMUN
- CUADRO 25 ANALISIS DE VARIANZA DE 2 VIAS SIN INTERACCION DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA FIBRA DIETETICA TOTAL
- CUADRO 26 DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE LA FIBRA DIETETICA DE 3 VARIEDADES DE FRIJOL COMUN
- CUADRO 27 ANALISIS DE VARIANZA DE 2 VIAS SIN INTERACCION DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE FIBRA DIETETICA TOTAL
- CUADRO 28 CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLOGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO FRIJOL NEGRO VAR. TAMASULAPA
- CUADRO 29 CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLOGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO FRIJOL ROJO
- CUADRO 30 CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLOGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO FRIJOL BLANCO
- CUADRO 31 CONTENIDO DE TANINOS INGERIDOS EN FRIJOLES COCIDOS, EXCRESION FECAL DE NITROGENO TOTAL Y DIGESTIBILIDAD APARENTE
- CUADRO 32 PUNTAJE DE AMINOACIDOS LIMITANTES EN LOS FRIJOLES COCIDOS
- CUADRO 33 ABSORCION Y DIGESTIBILIDADES DE AMINOACIDOS EN 4 INDIVIDUOS ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE FRIJOL NEGRO
- CUADRO 34 ABSORCION Y DIGESTIBILIDAD DE AMINOACIDOS EN 4 INDIVIDUOS ALIMENTADOS CON DIETA A BASE DE FRIJOL ROJO
- CUADRO 35 ABSORCIÓN Y DIGESTIBILIDAD DE AMINOACIDOS EN 4 INDIVIDUOS ALIMENTADOS CON DIETA A BASE DE FRIJOL BLANCO

LISTA DE GRAFICOS

- GRAFICO 1 REGRESION ENTRE BALANCE DE NITROGENO INGERIDO POR HUMANOS ADULTOS, EN DIETAS A BASE DE FRIJOL
- GRAFICO 2 REGRESION CUADRATICA ENTRE DIGESTIBILIDADES APARENTE Y BALANCE DE NITROGENO EN 3 VARIEDADES DE FRIJOL COMUN
- GRAFICO 3 REGRESION LINEAL ENTRE INGESTA DE CATEQUINAS Y DIGESTIBILIDAD APARENTE
- GRAFICO 4 REGRESION LINEAL ENTRE INGESTA DE ACIDO TANICO Y DIGESTIBILIDAD APARENTE
- GRAFICO 5 REGRESION LINEAL ENTRE NITROGENO FECAL SOLUBLE Y NITROGENO FECAL TOTAL
- GRAFICO 6 ANALISIS QUIMICOS EN FRIJOL VS DIGESTIBILIDAD APARENTE AJUSTADA

I. INTRODUCCION

El frijol común (Phaseolus vulgaris) es la leguminosa de mayor consumo en Latinoamérica (8,94). Es una importante fuente de proteínas y calorías, y adquiere mayor significado nutricional en poblaciones que tienen un consumo y disponibilidad limitadas de alimentos de origen animal (20,68,95,113).

Se acostumbra consumirlo acompañado de cereales, como maíz o arroz, o de alimentos feculentos, como el plátano y la yuca, que constituyen los complementos proteínicos naturales. La proporción en peso de frijol y maíz, por ejemplo, que ofrece un mayor valor nutritivo es de 3 partes de esta leguminosa por 7 partes de maíz (50). Sin embargo, nuestra población no la ingiere en esta proporción óptima en relación a los cereales, y más bien se consume menor cantidad de frijol que lo aconsejado.

Des pueden ser las explicaciones del menor consumo: 1) baja disponibilidad y 2) digestibilidad relativamente baja de la proteína del frijol (20).

La solución a la baja disponibilidad del frijol depende de la selección de variedades de mayor rendimiento, de mejores métodos de cultivo y de fertilización apropiada de la tierra (26). Por otro lado, el aumento en la digestibilidad está determinado por una serie de factores genéticos, bioquímicos, de procesamiento y almacenamiento de esta leguminosa de grano (9,26,87).

El presente estudio tuvo por objeto determinar la importancia de algunos factores sobre la digestibilidad de las proteínas del frijol (P. vulgaris) y de sus aminoácidos en humanos adultos.

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. Generalidades

La digestibilidad de las proteínas está determinada por la fracción del nitrógeno ingerido que es absorbido, y su expresión porcentual determina el coeficiente de digestibilidad (8). Representa uno de los factores que afectan la utilización metabólica de los productos de digestión (fracción absorbida) y la proporción de ésta que es retenida, los otros factores que determinan su aprovechamiento.

La baja digestibilidad de la proteína del frijol, junto con la deficiencia de aminoácidos azufrados (A.A.S.) son las principales limitantes en la eficiente utilización de las leguminosas (16). Por lo tanto, cualquier mejora en la digestibilidad de la proteína del frijol y/o su composición aminoacídica sería de gran repercusión nutricional en poblaciones cuya principal fuente de proteína es el frijol.

Las semillas de leguminosas crudas no son usadas como alimento (excepto Cicer arietinum y Vigna unguiculata) porque contienen factores tóxicos y antinutricionales que interfieren con los procesos digestivos y previenen la utilización eficiente de las proteínas de las leguminosas (20).

La cocción adecuada mejora la digestibilidad de las leguminosas, en el caso del P. vulgaris se incrementa aproximadamente en un 30% (18). Sin embargo, la digestibilidad del frijol cocido sigue siendo baja; por lo que se ha discutido mucho el por qué de esta baja digestibilidad y se ha concluido que ella está determinada por una serie de factores interrelacionados entre sí (18,59,87,89,112,113,117) y ellos son:

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

1. Generalidades

La digestibilidad de las proteínas está determinada por la fracción del nitrógeno ingerido que es absorbido, y su expresión porcentual determina el coeficiente de digestibilidad (8). Representa uno de los factores que afectan la utilización metabólica de los productos de digestión (fracción absorbida) y la proporción de ésta que es retenida, los otros factores que determinan su aprovechamiento.

La baja digestibilidad de la proteína del frijol, junto con la deficiencia de aminoácidos azufrados (A.A.S.) son las principales limitantes en la eficiente utilización de las leguminosas (16). Por lo tanto, cualquier mejora en la digestibilidad de la proteína del frijol y/o su composición aminoacídica sería de gran repercusión nutricional en poblaciones cuya principal fuente de proteína es el frijol.

Las semillas de leguminosas crudas no son usadas como alimento (excepto Cicer arietinum y Vigna inguiculata) por que contienen factores tóxicos y antinutricionales que interfieren con los procesos digestivos y previenen la utilización eficiente de las proteínas de las leguminosas (20).

La cocción adecuada mejora la digestibilidad de las leguminosas, en el caso del P. vulgaris se incrementa aproximadamente en un 30% (18). Sin embargo, la digestibilidad del frijol cocido sigue siendo baja; por lo que se ha discutido mucho el por qué de esta baja digestibilidad y se ha concluido que ella está determinada por una serie de factores interrelacionados entre sí (18,59,87,89,112,113,117) y ellos son:

- a) Factores antinutricionales
- b) la presencia de taninos
- c) ciertas fracciones proteínicas resistentes a la hidrólisis enzimática
- d) la rápida velocidad de paso a través del sistema gastrointestinal y
- e) efectos de procesamiento térmico.

Otros posibles factores son: alto contenido de carbohidratos insolubles e indigeribles constituidos por compuestos de la pared celular como celulosa, hemicelulosa y lignina (20,59,114).y condiciones de almacenamiento inadecuadas (59,93).

2. Factores antinutricionales

El valor nutritivo de las leguminosas crudas es afectado por una serie de factores, que son en su mayor parte tóxicos (65,82). Se clasifican en: 1) inhibidores de tripsina, 2) hemaglutininas, 3) factor bociogénico, 4) glucósidos cianogénicos, 5) factores causantes de latirismo, 6) factores causantes de favismo, 7) alcaloides como la dividina, 8) anticoagulantes como saponinas y 9) otros inhibidores enzimáticos y vitamínicos (20,34,65,82).

Los factores antinutricionales son destruidos por medio de una cocción adecuada, pues en su mayoría son termolábiles. Otras tecnologías de procesamiento son: la germinación, fermentación, suplementación de la dieta y preparación de aislados proteínicos, que permiten eliminar o contrarrestar los efectos indeseables que ocasionan su ingestión (20,34,65,82).

El interés en el papel nutricional de estos factores es a consecuencia de la reciente introducción de proteínas vege

tales texturizadas como posible sustituto de la proteína de carne para dieta de humanos, el uso de leguminosas en la preparación de alimentos de bajo costo y alto valor nutritivo para niños y la producción de aislados y concentrados proteínicos utilizados en productos de panificación y repostería (119). Como consecuencia, aquellos países donde la población consume gran cantidad de leguminosas han resultado beneficiados con estos estudios.

De los nueve factores antinutricionales anteriormente nombrados, el frijol P. vulgaris posee: inhibidores de tripsina, hemaglutininas y factores cianogénicos (34,55,67,83,119). Contiene otros inhibidores enzimáticos como son: inhibidores de amilasa pancreática (55,67), de quimiotripsina (34,65,119), de pepsina (34,131) e inhibidores inespecíficos de proteínasa (65,131). Además, posee un factor anti vitamina E y constituyentes enlazadores de metales (83).

Con respecto a los factores cianogénicos Liener (83) halló 2.0 mg de HCN por cada 100 g de "kidney bean". El ácido cianhídrico se encuentra unido a un glucósido y es hidrolizado durante el remojo del frijol, liberándose y volatilizándose durante la cocción del frijol.

Seidhl y col (131) aislaron una globulina del P. vulgaris ("kidney bean") diferente a los inhibidores de tripsina que reveló ser resistente a la acción proteolítica de siete proteasas: tripsina, quimiotripsina, pepsina, ficina, hurafina y subtilina, la cual aún retenía su acción inhibitoria después de desnaturalizar la proteína por acción del calor. Seidhl la denominó "inhibidor de proteínasas inespecífico".

Investigando los factores tóxicos presentes en el frijol, Jaffé (65) encontró en la fracción globulínica del fri

jol el inhibidor de proteínasa no específico e informó que era algo termoestable.

El Hag (34) señala que la globulina del frijol "kidney bean" posee un importante inhibidor de tripsina e inhibidores más leves de quimiotripsina, pepsina y papaína, los cuales pueden ser inactivados por calentamiento a 100 C por 30 minutos.

En un estudio anónimo (2) se alimentó individuos con frijol rojo crudo, previamente remojados durante 24 horas. Al rato los estudiantes se empezaron a sentir débiles, y a la hora de haberlos comido sufrieron náuseas y empezaron a vomitar, desarrollando después diarrea. En frijoles, vómito y heces se descartó la acción de bacterias, hongos, arsénico, plomo, mercurio y cianuro. Se sugiere como posibles causas varias proteínas y glucósidos tóxicos presentes en los frijoles crudos.

En ratas la ingestión de frijoles crudos provoca pérdida de peso, depresión en el crecimiento y finalmente la muerte (4,67,75,113). Según Kakade y Evans (75), la inhibición del crecimiento en las ratas alimentadas con frijoles crudos en parte puede deberse a: 1) ingesta de alimento, 2) pérdida aumentada de nitrógeno endógeno y 3) interferencia con la absorción de aminoácidos. Los autores señalan, que factores tóxicos como los inhibidores de tripsina y hemaglutinina pueden ser los causantes de los efectos.

Aún no se está seguro de cuál es el factor letal en el frijol crudo y en las diferentes fracciones proteínicas extraídas de semillas. Ninguno de los factores antinutricionales aislados e incluidos en una dieta de caseína causan la muerte, únicamente provocan depresión en el crecimiento y

la pobre utilización de los nutrientes (4).

Antunes y Sgarbierrri (4) postulan como posibles causas de letalidad por ingestión de frijol crudo: 1) la acción combinada de varios componentes tóxicos que incluyen posiblemente a compuestos no identificados y/o 2) la existencia de una o más sustancias tóxicas de bajo peso molecular no identificadas que podrían unirse de modo más o menos no específico a varios materiales celulares.

Los factores antinutricionales del frijol que han sido más estudiados son: los inhibidores de tripsina y las hemaglutininas, por lo que se van a revisar en forma individual.

2.1 Inhibidores de tripsina

La actividad de tripsina está influenciada por un factor lábil al calor, también conocido como inhibidor de tripsina verdadero, y por un factor resistente al calor, que son los taninos. El factor termolábil se encuentra en su mayor parte en el cotiledón y aquel resistente al calor en la cáscara del frijol (38).

El inhibidor de tripsina comprende el 2.5% de la proteína del frijol (74) y está distribuido en las diferentes fracciones proteínicas.

Según Marquez y Lajola (89) un 73% del inhibidor se encuentra en la fracción de albúmina y un 14% en la de glutelinas. Aunque los autores no lo indican, el restante 13% de actividad de inhibición de tripsina posiblemente se halle repartido entre la fracción de globulina y los taninos (35,76,89). Algunos estudios señalan que la fracción globulínica y la de taninos es rica en actividad inhibitoria de tripsina (34,130).

Tanto la tripsina como su inhibidor específico son fuentes importantes de cistina, contribuyendo el segundo con 40% del total de cistina de la proteína del frijol (74,80). Por lo tanto, la inhibición del factor por calor (38,77,84) o la administración de antibióticos que protejan a la tripsina de la degradación bacteriana (11,49) permitirán una mayor disponibilidad del aminoácido.

El inhibidor de tripsina del frijol crudo es más resistente a la tripsina y quimiotripsina, que cuando es cocido. Se cree que la resistencia al ataque enzimático es debida posiblemente a la estabilidad de la molécula producido por un gran número de enlaces disulfuro (14,84) y el efecto del calentamiento es ocasionar un desdoblamiento de las moléculas y como resultante los enlaces pépticos son susceptibles a rompimiento enzimático. Debido a la anterior suposición, Bressani y col (18) han propuesto que las diferencias en digestibilidad entre el frijol crudo y el cocido se debe a los inhibidores de tripsina.

Marquez y col (89) indicaron que el inhibidor de tripsina termoresistente (taninos) presenta una abundancia de puentes disulfuro que ayudan a estabilizar la estructura.

Los efectos secundarios que ocasiona el inhibidor tríp-tico son: 1) reducción de la digestibilidad de la proteína del frijol, 2) hipertrofia pancreática y 3) encierra una fracción significativa del contenido de cistina total de la proteína que ya es limitante en A.A.S. (80), por lo que debe considerarse al factor termoresistente del frijol como uno más de los contribuyentes en la digestibilidad proteínica.

Estudios realizados en soya por Liener (80) señalan que el 40% de la pobre digestibilidad e hipertrofia es ocasionada

por los inhibidores de tripsina, y el resto es debida a la naturaleza refractaria de la proteína no desnaturalizada que va a ser atacada por las enzimas digestivas.

Liener (83) no encontró correlación entre PER y actividad inhibitoria en frijoles, sugiriendo como posible explicación que la medición in vitro del inhibidor no refleja el contenido verdadero de éste. El autor hace la observación que posiblemente el inhibidor de tripsina se encuentre unido de tal modo que no puede ser extraído por el solvente acuoso, que es el más usado. Por último indica, que no puede extrapolar los resultados obtenidos en los animales con los obtenidos en humanos, en lo que se refiere a inhibidores de tripsina.

Se ha sugerido que se puede aumentar la velocidad de alimentación del inhibidor tríp-tico por medio del remojo del frijol (86,102) aunque no es indispensable para eliminar su toxicidad (102). Sin embargo, el remojo previo a la cocción de las leguminosas es necesario para ablandar las semillas, reduciéndose el tiempo de cocción (102).

2.2 Hemaglutininas

Las fitohemaglutininas o lectins son sustancias que tienen la habilidad de aglutinar glóbulos rojos y están ampliamente distribuidas en el reino vegetal (65). Su significado nutricional es importante pues se encuentran en aquellas leguminosas que constituyen una importante fuente de proteína dietética para muchos segmentos de la población (83).

En el frijol su actividad se encuentra distribuida en las diferentes fracciones proteínicas (73). Por ejemplo en el frijol común var. Rosinha G-2 se halla 4 veces más hemaglutininas en la fracción soluble (albúmina), que en la fracción insoluble (73). Putzai (108), halló que la fracción albúmina es más

tóxica que la fracción globulínica, atribuyendo la más alta toxicidad en la presencia de una o más fitohemaglutininas en esta fracción.

Por otro lado, Sathe y Slunkhe (119) indican que la actividad de hemaglutininas está ausente en albúminas, globulinas, concentrados proteínicos y aislados proteínicos, pero está presente en la harina del frijol var Great Northern.

De acuerdo a Kakade y Evans (75) la actividad hemaglutinante del frijol está localizada en una fracción soluble en ácido de pH 4.0, encontrándose el inhibidor en esta misma fracción. Como la mayor parte de la proteína del frijol es insoluble en solución ácida, una precipitación isoelectrónica a pH 4.0 permitiría separar la proteína del frijol de los factores antinutricionales.

La mayor parte de la actividad hemaglutinante se encuentra localizada en el cotiledón, encontrándose una pequeña cantidad en la cáscara de la semilla (38,51), González (51) no encontró relación alguna entre el color o pigmentación del frijol y el contenido de hemaglutininas.

Se cree que el modo de acción de las fitohemaglutininas en los seres vivos consiste en su combinación con las células epiteliales (75), lo cual interfiere con el trabajo de dichas células como son la digestión y absorción del alimento ingerido (107). Según Liener (80) el efecto adverso ejercido por las lectinas no es selectivo en la absorción de nutrientes, y no tiene un efecto directo en el proceso digestivo.

Gran número de autores (51,67,81,102,107) coinciden que la toxicidad del frijol crudo se debe, en su mayor parte, a la actividad de hemaglutininas, más bien que a los otros

factores enzimáticos y el grado de toxicidad de las lecitinas varía según la semilla de leguminosa (66) y el tipo de isolecitina. Sin embargo, Antunes y col (4) señalan que aún no se está seguro cuál es el factor letal del frijol crudo y en las diferentes fracciones extraídas, ya que ninguno de los factores antinutricionales aislados e incluidos en una dieta de caseína causan la muerte, únicamente depresión en el crecimiento y pobre utilización de nutrientes.

Andrews y Jayne-William (1) fraccionaron de diferentes maneras extractos salinos de frijol crudo, agregando las fracciones a dietas de frijoles autoclaveados y se las suministraron a cobayos japoneses. Los autores encontraron que sólo las fracciones que contienen actividad de hemaglutininas demostraron ser tóxicas. Jayne-Williams continuó sus observaciones en la toxicidad del frijol "navy" crudo en cobayos, señalando que los efectos letales y depresores de crecimiento no se debieron a la palatabilidad ni a un constituyente lipídico o carbohidrato dializable, sino a un material proteico soluble a pH 3 y precipitable con sulfato de amonio. El material resultó ser resistente a la digestión con pepsina y bacterias proteolíticas, pero fue destruido por cocción a 121 C durante 15 minutos. Los autores (70) sugieren que la toxicidad del RNB ("raw navy bean") puede deberse a las fitohemaglutininas, que conllevan a la invasión del tejido por componentes normalmente inocuos de la microflora intestinal.

Putzai y Palmer (108) precipitaron con solución de sulfato de amonio al 30-40% la fracción globulínica del frijol, después la pasaron por una columna de cromatografía de afinidad con fetuina, que es una glucoproteína a la que se unen las lecitinas. Como el eluido resultante no fue tóxico para ratas, los autores postulan que la proteína tóxica del frijol crudo no son sólo las hemaglutininas.

3. Taninos

Los taninos y los compuestos fenólicos están presentes en una amplia variedad de plantas como: leguminosas, frutas, vegetales, pastos y algunos cereales en concentraciones más o menos elevadas (111,137).

El término tanino es aplicado a compuestos fenólicos, con varios grupos hidroxilos y es no nitrogenado (48,103). Se clasifican en hidrolizables, formados por poliésteres de azúcares o alcoholes polihidroxílicos relativos y un ácido carboxílico fenólico, y taninos condensados que son polímeros y copolímeros de catequinas y antocianinas (103). Se diferencian en que con calentamiento en medio ácido o tratamiento enzimático, los taninos condensados no pueden hidrolizarse, mientras los hidrolizables sí (48,124).

Los taninos se caracterizan por ser astringentes, por ser solubles en agua y por la capacidad de unirse a las proteínas (124,136), siendo ésta última característica la de mayor importancia nutricional.

En el frijol, al igual que otras leguminosas y algunos cereales, los taninos se encuentran localizados en su mayor parte en la testa o pericarpio y su contenido en el cotiledón es bajo o inexistente (38,88). Los taninos están muy relacionados con los compuestos polifenólicos (antocianinas) responsables de la pigmentación de las semillas (38).

Ma (87) encontró una relación considerable entre el contenido de taninos y la intensidad del color en frijoles coloreados. Sin embargo, señala que frijoles de color blanco no contienen taninos.

Los taninos interfieren con la disponibilidad de los nutrientes, fundamentalmente la proteína dietaria, enlazándola mediante puentes de hidrógeno para formar compuestos insolubles e indigeribles (57,124), o inactivando enzimas intestinales, disminuyendo de esta forma la digestibilidad proteica y la disponibilidad de aminoácidos (9,16,124). Se ha reportado la capacidad que poseen de unirse a elementos traza (124) y posiblemente a carbohidratos (19), y su probable actividad carcinogénica (124).

Numerosos estudios (5,29,45,117,118) coinciden en que conforme se incrementa el contenido de taninos, disminuye la digestibilidad de la materia seca y el nitrógeno; por consiguiente, disminuye el valor nutritivo de la dieta, como lo demuestran menores valores de PER y NPU (37). Si en vez de aumentar el contenido de taninos, éste disminuye, ya sea descascarando los granos o removiendo el caldo de cocción, se observará un aumento en la digestibilidad. La remoción de la testa, no produce cambio significativo en el valor biológico (104).

La habilidad de los taninos para unirse a las proteínas depende de su tamaño molecular, siendo los polímeros grandes más efectivos que moléculas pequeñas (130).

Hernández (60) encontró correlación altamente significativa entre nitrógeno fecal, nitrógeno absorbido y digestibilidad aparente con diferentes niveles de catequina ingerida, observando que por cada mg% de catequina en frijoles, se incrementó la excreción de nitrógeno fecal en 0.2 mg/kg/día y la digestibilidad del nitrógeno aparente en 0.2%. El ácido tánico ingerido tiene un efecto semejante, aunque mucho menor que el que ejerce la catequina. Como en las muestras estudiadas, el autor (60) encontró una gran diferencia de con

centración entre ácido tánico y catequina en frijol cocido, se sugiere que los taninos condensados serían, entre los fenoles, uno de los factores más responsables en la disminución de la digestibilidad.

Rachamandra y col (111) estudiaron 32 variedades de mijo (Finger millet), encontrando que el contenido de fenoles totales fue .08, 1.08 y 1.24/100 g de harina. Para esas mismas muestras, el contenido de catequinas fue .06, 1.46 y 3.47%, y las respectivas digestibilidades in vitro fueron 85, 83 y 55%. Los autores indican que en el mijo los taninos condensados son los que afectan la digestibilidad in vitro. Sin embargo, algunas de las variedades analizadas con contenido intermedio de taninos (1.46-2.02%) presentaron valores de digestibilidad in vitro comparable con aquellas de las variedades de bajo contenido de taninos, por lo que sugieren que el efecto completo de los taninos sobre la digestibilidad proteica se exprese sólo cuando el contenido de taninos excede un determinado valor.

Otros estudios como el realizado por Glick y Joslyn (46) en quebracho y el de Tamir (142) en algarrobo verde, demuestran que los taninos condensados tiene mayor efecto en el nitrógeno que compuestos fenólicos de menor peso molecular. En frijoles cocidos, Linares y de Bosque (85) encontraron que el contenido de catequinas correlacionaba significativamente ($r=-0.4$) con la digestibilidad determinada en ratas.

Por ser las enzimas proteínicas, también van a interactuar con los taninos formándose el complejo enzima-inhibidor. Se ha encontrado (71) que el efecto inhibitorio de los taninos depende del pH, fuerza iónica y concentración de la enzima participante y de los taninos. El complejo enzima-inhibidor es reversible, aunque en extensión más limitada con los taninos condensados.

Elías y col (38) encontraron una correlación altamente significativa ($r=.88$) entre la concentración de taninos y la actividad inhibitoria de tripsina de la cáscara de frijol, y en el cotiledón no encontró asociación. Un aumento en el contenido de taninos, incrementa la cantidad de inhibidor de tripsina termoestable (51).

Otras enzimas digestivas inactivadas por los taninos ingeridos son α -amilasa, y en menor grado lipasa (52).

Las enzimas pancreáticas están controladas por retroalimentación negativa, y al ser inhibidas aumenta su secreción resultando en un aumento en el nitrógeno excretado (124) y mayores pérdidas de A.A.S., ya deficientes en la proteína del frijol (74,82). La hipersecreción enzimática conlleva a la hipertrofia del páncreas (51,80).

Glick y Joslyn (46) alimentaron ratas con dietas que contenían 2-8% de ácido tánico y 5% de taninos condensados, por 12-53 días. Encontraron que la actividad de enzimas proteolíticas intestinales se triplicó cuando a la dieta se le había agregado ácido tánico, y se cuadruplicó con taninos condensados.

Estudios in vitro realizados en "field beans" (54) señalan que los taninos además de reducir la digestibilidad de la proteína, disminuyen la solubilidad de la testa. Griffiths y Jones (54) encontraron una correlación altamente significativa ($r=-.93$) entre el contenido de taninos y la solubilidad de celulasa y postulan que el efecto de los taninos de la testa en la digestibilidad in vitro puede atribuirse principalmente a su efecto sobre las enzimas digestivas de la pared celular más que un efecto en la solubilidad proteica "per se".

La capacidad que tienen los taninos de unirse a elementos

traza, como el hierro, debe ser tomada en cuenta como posible factor en la disminución de la disponibilidad de este mineral donde las poblaciones tienen una ingestión alta de frijol y la de hierro hemínico es baja. Aunque Radhakrishman y Sivaprasad (110) sugieren que el tanino de variedades de sorgo de alto contenido de este polifenol no es importante en determinar la disponibilidad de hierro. En otro estudio(47) realizado con ratas alimentadas con una dieta basal más 4.5 a 8% de ácido tánico, no se encontró anemia. Sin embargo, uno de los métodos para determinar taninos (57) se basa en su capacidad de unirse al hierro, por lo que no debe despreciarse la posibilidad de que los taninos disminuyan la disponibilidad del hierro alimenticio.

De España (29) señala que durante la cocción del frijol se disminuye el 30-49% de los polifenoles, expresados como porcentaje de ácido tánico, cuando el frijol cocido se evalúa junto con el caldo. Elías y col (38) y Fukuda (45) encontraron mayores valores de taninos en muestras de frijol cocido analizado con caldo de cocción. Las pérdidas de equivalentes de catequina durante la cocción de frijoles parece ser mayor que la del ácido tánico, cuando se usa como indicador del contenido de polifenoles (85).

Por ahora, no existe una posible explicación de la pérdida de taninos, siendo posible que los polifenoles reaccionan con carbohidratos, proteína u otras sustancias que podrían ser medidas biológicamente, o pueden ser parcialmente destruidas (20).

4. Fracciones proteicas resistentes a la hidrólisis

En el frijol, la proteína se localiza en los cotiledones, el axis embrionario y la envoltura del grano, siendo

la cantidad de proteína reportada en c/u: 96, 2 y 2% en un estudio (125) y 68, 22 y 10% de la proteína en otro estudio (105).

Las proteínas del frijol, como las otras leguminosas, están constituidas por albúminas, globulinas, prolaminas y glutelinas. La fracción globulínica es la que se encuentra en mayor cantidad y constituye el 75% del total de proteína (63); se encuentra almacenada en los cuerpos proteicos, denominados granos de aleurona, y es la proteína de almacenamiento del frijol (32).

Las globulinas de almacenamiento son complejas y la tecnología de su aislamiento, purificación y caracterización apenas está comenzando a entenderse lo suficiente para obtener resultados comparables en los diferentes laboratorios (10,116). Sin embargo, muchos autores (31,109) coinciden en que por extracción ácida, la globulina se separa en dos fracciones G_1 y G_2 . Según varios autores (31,41,63,109) la G_1 es una glicoproteína II, con coeficiente de sedimentación 11S y que presenta características de la fracción globulínica de Pisum sativum llamada legumina. No obstante Derbyshire(31) alega que la globulina que se encuentra en mayor cantidad en el P. vulgaris es la glicoproteína II (G_1) y que la legumina representa una mayor proporción de la proteína de estos frijoles.

Evans y Kerr(41) señalan que la faseolina es la principal proteína en las fracciones de globulina, y siendo la fracción de globulina presente en mayor cantidad (63,89,129) se puede deducir que la fracción G_1 del género Phaseolus sp se llama faseolina.

La G_2 tiene un coeficiente de sedimentación de 7s (28,

129) y presenta características de la fracción globulínica vicilina, y es llamada por Danielson (28) confaseolina.

Derbyshire (32) comenta que la discrepancia con Danielson (28) es desconcertante en lo referente a las fracciones globulínicas G₁ y G₂, pues Derbyshire halla que la globulina mayor del género Phaseolus tiene un coeficiente de sedimentación de 7s; la llama faseolina y la iguala a la vicilina de Pisum sativum. Danielson (28) señala que la globulina mayor de P. vulgaris tiene un coeficiente de sedimentación de 11.0s y la llama faseolina, y la que se encuentra en menor cantidad y con coeficiente de sedimentación de 7.3s la llamó confaseolina.

Márquez y col (89) fraccionaron la proteína del frijol var. Carioca y hallaron que la G₁ se halla en mayor cantidad (38.1%) que la G₂ (13.8%). El contenido de las restantes fracciones proteínicas fue 31.5% de albúmina, 22.4% de glutelinas y 1.7% de prolaminas.

En el frijol la proporción que existe de globulina y albúmina es 1.70-1.85:1 (120,126). Evans (41) le llama faseolina a la fracción de albúmina.

Las globulinas G₁ y G₂ son deficientes en A.A.S., siendo las mejores fuentes de estos aminoácidos las glutelinas y albúminas (93). Por lo que Márquez y Lojola (89) indican que nutricionalmente las mejores fracciones son la albúmina, seguida de la glutelina. Sin embargo, el autor halló que en un 73% del contenido de inhibidor de tripsina, se halla en la fracción de albúmina y un 14% en la de glutelinas. Además, Antunes (4) indica que la fracción albúmina es la que presenta la mayor actividad de factores antinutricionales (inhibidores de tripsina, inhibidores de quimiotripsina y fitohema-

glutelinas) y que la fracción globulínica tiene una actividad hemaglutinante considerable. En la proteína del frijol var Rosinha G-2, Junqueira (73) halló actividad hemaglutinante, encontrando cuatro veces más en la fracción soluble (albúmina) que la fracción insoluble (globulina). En vista que la albúmina sí tiene mayor valor nutricional que la globulina basándonos en el contenido de A.A.S.

Jaffé (65) encontró un inhibidor de proteinasa no específico en la fracción globulina de la proteína del frijol y señaló que era algo termoestable. Otros inhibidores hallados en las globulinas son los inhibidores de tripsina e inhibidores más leves de quimiotripsina, pepsina, papaína, ficina, huraina y subtilina (34,123).

El tratamiento térmico y químico (con urea) permite una ligera hidrólisis enzimática de esta fracción globulínica (123), permaneciendo algo de actividad inhibitoria, Seidhl y affé (123) proponen para este factor globulínico el nombre de inhibidor globulínico de proteinasas o fracción E, y sugieren que podría ser la disminución de la digestibilidad del frijol negro cocido esté relacionada a la globulina descrita. La germinación del frijol disminuye en un 33% la globulina E de la proteína, que es rica en actividad inhibitoria de tripsina (35).

La digestibilidad de las fracciones proteicas ha sido ampliamente discutida (4,104,126), siendo muy contradictoria. La digestibilidad de la fracción globulínica, fracción albúmina y aislado proteico de frijol cocido durante 7.5 minutos a 121 C y 15 PSI fue 86, 82 y 85.4%, respectivamente (4). También Phillips (104) halló que globulinas aisladas de frijol son altamente digeribles (D.V.= 95.4%).

Sgarbieri (126) explica que parte de la baja digestibilidad de la proteína del frijol se debe a la fracción insoluble en cloruro de sodio, que es la fracción indigestible y que constituye un 20-30% de la proteína total. Por el contrario, Seidl y col (123) concluyeron que la fracción globulínica debe ser la responsable por la baja digestibilidad de la proteína total en el frijol, ya que después de tratamiento térmico aún presenta actividad inhibitoria de proteasa y, por lo tanto, resistencia a la acción enzimática. Debido a la baja digestibilidad de las fracciones proteicas del frijol y a la relativa abundancia de globulinas, Ortega (100) las caracterizó, encontrando que el 75% son globulinas difíciles de digerir.

Bressani y col (22) encontraron una menor digestibilidad de la fracción nitrogenada soluble en agua que la insoluble, en perros alimentados con dietas a base de frijol rojo, negro y blanco. De igual manera, Moraes y Dutra (95) hallaron que la fracción soluble es menos digerible que la fracción total o la fracción insoluble de frijoles. Sin embargo, Bressani y col (22) aconsejaron tener reservas para hacer la anterior interpretación, ya que pudieron haber surgido cambios en las características de solubilidad en las fracciones excretadas en las heces.

Restrepo (112) utilizó un método alternativo de aislamiento de proteínas: el aislamiento de partículas intracelulares, llamados cuerpos proteicos, en vez de utilizar el método convencional de extracción con solvente. Al ensayar las heces fecales de individuos alimentados con dietas a base de frijol de color negro y rojo, encontró la presencia de dichas estructuras en las heces, las cuales contienen el 60-70% del total de proteína. El autor (112) señala que la baja digestibilidad proteínica en las leguminosas de grano (P. vulgaris)

en parte puede deberse al alto contenido de carbohidratos insolubles e indigeribles que contiene el frijol. Vale la pena preguntarse si la baja digestibilidad de la proteína del frijol se deberá a la estructura y composición de sus fracciones, o al poco acceso que tienen las enzimas proteolíticas para hidrolizar a la proteína rodeada por carbohidratos indigeribles.

También ha sido señalado que proteínas con un contenido relativamente bajo de metionina y/o cistina, se encuentran formando un complejo con el ácido fítico del frijol. Posiblemente esta proteína no sea disponible, pues el ácido fítico no lo es (40).

Por otro lado, Rosales Arzú (117) sugiere que es probable que la fracción soluble en hidróxido de sodio sea la causante de la baja digestibilidad del frijol y otros efectos indeseables. Pero como Núñez (104) señala el hidróxido de sodio como el mejor solvente para extraer la mayor proporción de nitrógeno soluble, ya que el pH favorece la solubilización de la proteína, y esta extracción alcalina estaría señalando la digestibilidad de la mayor parte de las fracciones proteicas del frijol.

Hernández (60) también determinó la digestibilidad de las fracciones de nitrógeno soluble e insoluble en NaOH .02N y encontró que la fracción soluble contribuiría en parte a la baja digestibilidad del nitrógeno total. Concluye que aunque el NaOH no fracciona específicamente las proteínas del frijol (98), las globulinas son extraídas en mayor proporción.

En el mijo (Finger millet) la fracción de glutelina ha sido responsabilizada por la baja digestibilidad de la proteína, debido a su alta asociación con las catequinas (111).

La cocción mejora la digestibilidad del frijol, debido a una mayor disponibilidad de las proteínas al ataque enzimático por la acción de la temperatura, lo que contribuye a exponer los sitios susceptibles de ataque a las proteínas (51). Márquez y Lojola (89) han postulado que la conformación estructural de las globulinas crudas no permite la hidrólisis enzimática, y que una vez calentado aumenta mucho su digestibilidad. Sin embargo, el calentamiento debido a un impedimento esférico o bloqueo en sus residuos de aminoácido necesarios para la acción enzimática, o también puede deberse a un fenol o quinona libre que forme un complejo con la proteína (89).

De acuerdo con Wood y Cole (138) la estrategia a seguir para mejorar el valor nutritivo de las semillas de leguminosas debe estar dirigido a su composición proteínica. Otros autores (15, 87, 127) consideran la importancia de la manipulación genética controlada de estas proteínas para aumentar el valor nutricional de las semillas de leguminosas.

5. Velocidad de paso a través del sistema gastrointestinal

Bressani y Elías (20) han sugerido que la rápida velocidad de paso de los frijoles a través del tracto digestivo puede ser una de las causas de la baja digestibilidad de su proteína.

El tipo de alimento ingerido ha sido relacionado con la velocidad de paso del residuo alimenticio a lo largo del sistema gastrointestinal (108), ya que su contenido proteico, y posiblemente tipo de proteína, son los que determinan la capacidad buferizante hacia los ácidos estomacales. Se ha sugerido que la velocidad de paso está relacionada a la diferencia de respuesta de pH gástrico a la dieta; por lo

que una acción buferizante retarda la activación de enzimas proteolíticas, disminuyendo la digestibilidad de la proteína.

Hellendoorn (58) demostró en ratas alimentadas con dietas a base de frijol un paso más rápido del alimento ingerido a través del tracto intestinal, señalando además que los causantes de este efecto eran los cotiledones y no la cáscara del grano.

También, se ha observado un aumento en el número de evacuaciones y en el peso, en niños alimentados con dietas a base de frijol negro íntegro, o de sus fracciones (117).

Mitjala y col (91) han señalado una asociación entre el aumento de peso de las heces fecales y el contenido de taninos en el alimento.

6. Procesamiento térmico

Los frijoles se cuecen para mejorar su textura y sus propiedades organolépticas. Previo a la cocción se remojan en agua hasta por 18 horas (19), para suavizarlos y reducir el tiempo de cocción (102).

Tradicionalmente la cocción se realizaba en olla abierta, o sea a presión atmosférica, tardándose en tal proceso unas cuatro horas, cuando la temperatura utilizada es la ebullición. En cambio si se utiliza olla de presión (a 15 PSI) el tiempo de cocción es menor, aproximadamente 30 minutos, ahorrándose combustible y resultando un producto con características organolépticas y nutricionales equivalentes a aquellas preparadas por cocción prolongada. En ambos casos, el calentamiento controlado destruye a los inhibidores termosensibles, dando como resultado un aumento en la digestibilidad, el cual depende del control de la temperatura, tiempo y

presión de cocción (22,113).

Ha sido demostrado que hay un tiempo óptimo de cocción para una máxima digestibilidad de frijoles autoclaveados(17, 64). Si el tiempo es menor al óptimo los frijoles no son aceptables desde el punto de vista organoléptico debido a su dureza, aunque sus propiedades nutricionales son adecuadas. Si el tiempo se prolonga más allá del aconsejado, ocurre una disminución en el valor nutritivo de los frijoles debido al decremento de lisina disponible, menor ganancia de peso en ratas y menores valores de PER (17,113).

El incremento en la digestibilidad de la proteína del frijol cocido adecuadamente, posiblemente se deba a una serie de cambios que ocurren durante el termoproceso, siendo los que hasta ahora se conocen: la destrucción de la estructura terciaria de ciertas proteínas que ofrecen resistencia a la hidrólisis enzimática y el rompimiento de la pared celular de los vegetales para la digestión o que la fracción de carbohidratos se hiciera más susceptible a la hidrólisis (20).

Hernández (60) y de España (29) encontraron una disminución en el contenido de taninos en el frijol cocido y evaluado junto con el caldo. Los autores (29,60) proponen que puede deberse a la formación de complejos insolubles durante la cocción, debido a la reacción entre polifenoles y carbohidratos, proteínas u otras sustancias (19).

Otros compuestos que son reducidos ligeramente con la cocción son los carbohidratos (39).

Un exceso de cocción del frijol tiene efectos indeseables, como es una menor digestibilidad, disponibilidad de

aminoácidos y valor nutritivo (16). Frange (44) recomienda un tratamiento térmico cuidadoso en los frijoles, ya que constituyen una fuente de lisina, siendo aún más importante cuando son la principal fuente proteica.

Según Bressani y col (16) la expansión de técnicas de procesamiento simple para preparar leguminosas de cocción rápida con adecuadas cualidades nutricionales y organolépticas han sido retardadas por costumbres y prácticas tradicionales. Sin embargo, el ahorro de energía puede acelerar la aceptabilidad de nuevas tecnologías de procesamiento que ahorran tiempo, trabajo y combustible.

7. Carbohidratos indigeribles

La digestibilidad de los alimentos de origen vegetal está altamente influenciada por las sustancias intercelulares y las paredes mismas; representan el 15-20% de la materia seca (133). Se puede mejorar la digestibilidad de la materia seca utilizando enzimas como: macerozimasas, conocidas como enzimas separadoras de células (CSE) las cuales digieren la protopectina, y las paredes celulares se utiliza celulasa y de este modo saldrán de la célula nutrientes como proteína y almidón (133).

En las leguminosas los carbohidratos representan la fracción más abundante; por ejemplo, en el frijol común el 60-65% de la materia seca está constituida por carbohidratos, de los cuales un 48% son almidón y 15 a 20% carbohidratos indigeribles totales (58).

En un estudio realizado en niños (117) en que la dieta era a base de frijol negro íntegro o de sus fracciones, se encontró una correlación significativa de 0.57 entre el peso de las evacuaciones y el contenido de carbohidrato de cada

fuerza de nitrógeno. La correlación aumentó aún más (0.63) cuando se comparó el peso de las evacuaciones con el contenido de fibra cruda de cada dieta. Se puede deducir de tal información que el contenido de carbohidratos y de fibra cruda afectan en cierta medida la digestibilidad del frijol.

Restrepo (112) encontró cuerpos proteicos de frijol en las heces de individuos alimentados con esta leguminosa, y sugiere que la baja digestibilidad proteínica del frijol puede deberse, en parte, al alto contenido de carbohidratos insolubles e indigeribles constituidos por compuestos de la pared celular, celulosa, hemicelulosa y lignina. La naturaleza y composición química de estos carbohidratos hace que sean indigeribles por las enzimas digestivas, razón por la cual las fracciones de cuerpos proteicos no están disponibles en forma completa y parte de ellas van a ser excretadas en las heces fecales.

Evans y Bauer (40) encontraron que parte del ácido fítico de los frijoles se encuentra formando un complejo con proteínas unida a este carbohidrato, que representa un 16% de la total.

El análisis de las proteínas de frijol demuestra que algunas son glicoproteínas, como la G₁ y el componente A (63). La composición de dicho componente en lo que respecta a azúcares es: 5.0% de manosa y 1.2% de hexosamina (63).

En otro estudio (119) se determinó el contenido de rafinosa, verbascosa y estaquiosa en concentrados y aislados proteicos, y en las fracciones albumínicas y globulínicas de frijol var Great Northern. El único azúcar hallado en las fracciones fue estaquiosa, encontrándose presente sólo en la fracción globulínica.

Cuando se procesa térmicamente los frijoles, los carbohidratos interactúan con la proteína, disminuyéndose el valor nutritivo y la disponibilidad de algunos aminoácidos (21). Los aminoácidos involucrados son particularmente: lisina, metionina, arginina, histidina y triptófano (79). Las proteínas modificadas resultantes se hacen más resistentes a la hidrólisis enzimática, de tal modo que la velocidad a la que los aminoácidos son liberados durante la digestión, es retardada (21). Liener (79) propone que estos enlaces peptídicos resistentes pueden surgir de dos modos: por interacción de grupos amino no peptídicos de lisina y arginina o por interacción de grupos aminos no peptídicos de lisina y arginina con azúcares reductores.

8. Condiciones de almacenamiento

El deterioro más notorio en la calidad del frijol por condiciones inadecuadas de almacenamiento es el endurecimiento de la cáscara del grano. Esta condición es generalmente evaluada por el tiempo que el frijol necesita para ablandarse por la cocción (3, 19, 37, 62).

Bressani y col (16) sugieren que el endurecimiento de los granos puede deberse a: a) condensación de los taninos, la que disminuye la permeabilidad al agua, y a reacciones químicas entre proteínas y taninos catalizadas por inadecuadas condiciones de almacenamiento; b) reacciones entre calcio y magnesio y compuestos orgánicos bajo la cáscara del frijol; c) reacciones enzimáticas; d) cambios en la estructura celular; y e) aumento en la cantidad de proteína lignificada (82).

Hughes y Sandsted (62) almacenaron durante un año semilla de frijol P. vulgaris var California Light Red Kidney a

temperaturas de 1, 12 y 24 C, y humedades relativas de 30 80%. Los autores señalan que altas temperaturas aceleran el oscurecimiento del color de la testa del grano. Los frijoles almacenados con una humedad relativa de 80% y a 24 C presentaron la coloración más oscura y una pérdida total de la capacidad germinativa; la acidez grasa se cuadruplicó y el tiempo para una cocción adecuada fue el doble del inicial. Semillas almacenadas a 1 C y humedad relativa de 30% mantuvieron el color original del grano, el porcentaje de germinación, la acidez grasa y el tiempo de cocción.

Se ha informado (90) que durante el almacenamiento se incrementa la cantidad de proteína lignificada, y si las condiciones de almacenamiento son inadecuadas, aumenta aún más.

Para disminuir o retardar el endurecimiento del frijol y aprovechamiento de sus nutrientes mediante una digestibilidad adecuada, se recomienda almacenarlos a baja temperatura y humedad relativa, y si es posible darles una cocción rápida previamente, sin agregar agua (3,62,93). El tratamiento térmico antes de almacenar los granos aumenta su estabilidad comparada a los frijoles crudos, debido a que en los frijoles procesados no hay condiciones que permitan reacciones enzimáticas (93).

9. El nitrógeno endógeno como posible fuente de proteína no digerida en dietas a base de frijol

En un estudio de digestibilidad de proteína realizado en leguminosas Bender (13) sugirió que mucho del nitrógeno excretado en las heces proviene de fuentes endógenas y no es proteína dietética no digerida. Tal aseveración implicaría que las proteínas de los frijoles no son poco digeribles, sino que contienen un factor que aumenta grandemente la excreción del nitrógeno endógeno.

El nitrógeno fecal puede provenir de cuatro fuentes:

- a) proteína dietaria no digerida;
- b) residuos de jugos digestivos;
- c) células epiteliales del tracto digestivo; y
- d) bacterias.

Para determinar la fuente del nitrógeno excretado se puede utilizar la determinación del contenido de DNA fecal (13), ya que tanto células de la mucosa intestinal como las bacterias contienen DNA, mientras que la proteína dietética y jugos digestivos no.

Bender (13) cuantificó la proporción de DNA excretado/nitrógeno fecal en ratas alimentadas con dietas de caseína y a base de frijol (20,40 y 80% de frijoles) y en la dieta libre de nitrógeno. El autor observó que la proporción DNA/nitrógeno en la dieta de caseína posiblemente provenga de residuos de jugos digestivos ya que esta proteína es muy digerible. En las dietas de frijol, la proporción de DNA/nitrógeno excretado es ligeramente mayor que la de caseína, y la ligera diferencia puede provenir del frijol, esta relación debería ser mucho menor que la de la caseína.

Según Bender (13), las bacterias contribuyen poco en el contenido de DNA fecal y concluye que la pérdida aumentada de nitrógeno parece provenir de fuentes endógenas cuando se consumen leguminosas.

Estudios realizados en soya por de Muelenaere (30) señalan que el inhibidor de tripsina de esta leguminosa ocasiona una caída aumentada de células de la mucosa, incrementando la secreción de enzimas digestivas y la inhibición de la absorción de aminoácidos en ratas. Por lo que Kakade y Evans (75) sugieren que la presencia del inhibidor de tripsina en los

frijoles puede explicar los resultados obtenidos del análisis de nitrógeno de los contenidos intestinales.

Por otro lado, ratones a los que se les administró vía rectal un enema de bario con ácido tánico, para definir mejor la pared del colon para diagnóstico con rayos X, presentaron inhibición de la glucosa y metionina. Singleton (124) cree que tal efecto inhibitorio es el resultado de la desnaturación de las proteínas de la capa epitelial intestinal por el ácido tánico.

Los anteriores estudios (75,124) demuestran que las leguminosas pueden ocasionar una caída excesiva de células, además del ya conocido efecto de los inhibidores enzimáticos en la hipersecreción de enzimas digestivas; todo esto respalda el hallazgo de Bender: ocurre una pérdida excesiva de nitrógeno cuando se consumen leguminosas crudas y cocidas.

III. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

A. General

Estudiar en humanos adultos el problema de la digestibilidad de la proteína del frijol.

B. Específicos

1. Establecer la importancia de los inhibidores de tripsina residuales, taninos y fibra dietética sobre la digestibilidad de la proteína del frijol común.

2. Caracterizar químicamente el nitrógeno fecal en relación al nitrógeno ingerido de individuos alimentados con frijol.

3. Evaluar la disponibilidad de los aminoácidos y de las proteínas del frijol (Phaseolus vulgaris).

IV. MATERIALES Y METODOS

A. MATERIALES

1. Frijol

Se utilizó en este estudio frijol (P. vulgaris) de 3 variedades y colores: negro (var Tamasulapa), rojo (var comercial) y blanco (var comercial). Las muestras eran de reciente cosecha, y fueron almacenadas en cuarto refrigerado a 5°C hasta practicar los análisis químicos y pruebas biológicas correspondientes.

2. Sujetos experimentales

Para el estudio de evaluación biológica del frijol se seleccionaron 12 individuos adultos sanos de sexo masculino, con edad comprendida entre los 19 y los 39 años. La selección se hizo después de haberseles realizado exámen médico, clínico y parasitológico; además, se trató de disminuir la variabilidad por peso al mínimo entre sujetos.

Previo al inicio del estudio, se concientizó a los individuos sobre la importancia de la evaluación y la colaboración que se esperaba de ellos. Se les notificó el horario de comida y se les enseñó el modo de recoger las muestras fecales.

Durante los dos ensayos los sujetos desarrollaron sus actividades normales, las cuales eran moderadas y fueron: limpieza, mensajero, electricista, laboratorista y estudiante 7, 2, 1, 1 y 1 individuo, respectivamente. Los individuos eran voluntarios y colaboraron ampliamente en el estudio demostrando buen sentido de responsabilidad.

B. METODOS

El estudio consistió de fases:

1. Evaluación biológica de las dietas de frijol cocido en humanos adultos.
2. Análisis químico del frijol crudo y cocido, y de las muestras fecales producto del ensayo.

1. Evaluación biológica del frijol cocido.

1.1 Diseño del plan experimental.

El estudio se realizó en dos ensayos. En el primero de ellos se administró la dieta libre de nitrógeno (DLN), y en el segundo ensayo se proporcionaron las dietas a base de frijol. La duración de cada ensayo fue de 5 y 15 días, respectivamente, con un intervalo de tiempo entre ambos de 2 semanas. En ambos ensayos los 2 primeros días fueron de adaptación y los siguientes 3, de balance.

Los individuos seleccionados para el estudio ingirieron la variedad de frijol según el cuadrado latino modificado presentado en el Cuadro 1. Con este plan experimental se puede calcular además del efecto por tratamiento (var de frijol ingerido), el efecto por diferencia entre sujetos, efecto por tiempo y efectos residuales de la dieta anterior en estudio.

1.2 Preparación de la muestra de frijol.

Una limpieza manual y cuidadosa se practicó en las tres variedades de frijol para asegurar la eliminación de residuos del campo: arenas, palitos o basura. Enseguida lotes de cada variedad se colocaron en recipientes de acero inoxidable a los que se agregó tres partes de agua por una parte de frijol, y se dejaron en remojo durante 16 horas. Posteriormente, se cocieron en retortas durante 15 minutos a 121 C y 15 PSI, resultando un grano suave y no grumoso. El caldo de remojo y

de cocción fue incluido en todas las dietas. Los lotes de frijoles fueron cocidos cada 5 días, conforme se necesitaron para el consumo de los individuos. Un duplicado se guardó para análisis. El frijol cocido se licuó con todo y caldo. Se pesó la cantidad necesaria del frijol licuado para cada individuo, y se refrigeró hasta el momento oportuno de su utilización.

1.3 Estudio biológico.

En ambos estudios se sirvieron tres comidas y una merienda. Se proporcionó en forma alterna día a día las vitaminas y minerales siendo para un día media pastilla efervescente de Ca-Vit C de los laboratorios Sandoz que proporciona: 0.5g de ácido ascórbico, 0.5g de lactogluconato de calcio y 0.2g de carbonato de calcio. Al día siguiente ingirieron una gaseosa de Unicap-T de los laboratorios Uphohn que contiene: 500 UI de vitamina A; 500 UI de vitamina D; 10 mg mononitrato de tiamina; 10 mg de riboflavina; 300 mg de ácido ascórbico como ascorbato de sodio; 100 mg de niacinamida; 2 mg de clorhidrato de piridoxina; 20 mg de pantotenato de calcio; 4 ug de actividad de vit. 12; 1 mg de cobre como sulfato de cobre; 10 mg de hierro como sulfato ferroso; 0.15 mg de yodo como yoduro de potasio; 50 mg de calcio como carbonato de calcio; 1 mg de manganeso como sulfato de manganeso; 6 mg de magnesio como sulfato de magnesio y 5 mg de potasio como sulfato de potasio.

Las dietas proporcionadas a los individuos fueron isocalóricas, y ajustadas a 45 Kcal/kg del peso del individuo. Durante el ensayo de las variedades de frijol se dio 0.65g de proteína/kg/día, cantidad determinada como necesaria para estar en equilibrio nitrogenado. La cantidad de agua ingerida fue de 0.8ml/kcal diaria ingerida.

Con el fin de proporcionar las calorías necesarias para el equilibrio calórico y agua para el equilibrio hídrico se dio 2 tipos de dietas basales según el sujeto de menor peso. Para los demás individuos se complementaron sus requerimientos calóricos con refrescos no naturales de frutas y refrescos carbonatados, galletas de almidón y caramelos. En el Cuadro 2 aparece la dieta basal que se dio durante la fase de la DLN, la cual llena las necesidades de fibra vegetal que permiten una función intestinal normal. En el mismo cuadro se describe la dieta basal ofrecida durante el período de dietas de frijol. Esta dieta se llamará de aquí en adelante Dieta Baja en Nitrógeno (DBN) por contener una cantidad mínima de proteína de los alimentos naturales incluidos.

Los marcadores utilizados para separar las muestras de heces fueron: carmín y carbón vegetal.

Las muestras fecales recolectadas previo al análisis químico fueron refrigeradas a 5°C en el caso de la orinas y congeladas a -20°C en el caso de las heces, así como duplicados de las dietas basales y los frijoles cocidos.

2. Análisis químicos de frijoles y heces.

2.1 Preparación de las muestras.

2.1.1 Frijol crudo: se molió frijol limpio de modo que pasara 40 mallas, y se guardó en frasco de vidrio color ámbar.

2.1.2 Frijol cocido: del frijol cocido molido preparado en cada período experimental se tomó una submuestra, la cual se liofilizó, molió y envasó.

2.1.3 Dietas basales: cada 2 días del estudio se almacenó la dieta basal de un día completo, la cual se homogenizó, liofilizó, molió y envasó.

2.1.4 Heces fecales: las heces de cada período experimental

se liofilizaron en su totalidad, se molieron y envasaron.

2.1.5 Orinas: al final de cada período experimental se midió el volumen de la orina de 24 horas, la cual contenía 10 ml de HCL 1%. Se tomó una alícuota de la orina y se guardó bajo refrigeración para análisis.

2.2 Humedad: se determinó la humedad en fresco y residual en las muestras de frijoles crudos y cocidos, dietas basales y heces según el método de la AOAC (7).

2.3 Nitrógeno: las muestras de frijol crudo y cocido, dietas basales, heces y orinas fueron analizadas por nitrógeno por el método de macro-Kjeldahl (7). El contenido de nitrógeno de las muestras de frijol se expresó también como proteína cruda, en cuyo caso se utilizó el factor 6.25.

2.4 Inhibidores de tripsina: el análisis se hizo en los frijoles crudos y cocidos, según el método de Kakade y Evans(75).

2.5 Hemaglutininas: se cuantificaron en frijol crudo y cocido según el método de González,D (51).

2.6 Taninos: se cuantificaron por 3 diferentes métodos en las muestras de frijol crudo y cocido:

2.6.1 Taninos hidrolizables: se expresaron como g% de ácido tánico utilizándose el método de Burns (25).

2.6.2 Taninos condensados: se expresaron como mg% de catequina por el método propuesto por Price, Van Scoyoc y Butler(106). En frijoles blancos crudos y frijoles cocidos fue necesario aumentar el peso de la muestra 10 veces, de 0.2 a 2.0g. Se extrajo la muestra con 25 ml de metanol y se tomó 5 ml del sobrenadante el cual se colocó en tubo cónico de 15 ml, y se evaporó a sequedad en un horno de convección a 50 C. Se le agregó 1 ml de metanol para reconstituirlo, se agitó vigorosa

mente y se continuó el método tal como lo señalan los autores (106).

2.6.3 Taninos por el método de Hagerman y Butler (57), modificado por Rodríguez (115); para las variedades analizadas se introdujeron 2 modificaciones de modo que las lecturas espectrofotométricas cumplieran la ley de Beer y Lambert. Para el frijol negro se pipeteó 1 ml de la suspensión metanólica, en vez de 8 ml. Para el frijol rojo crudo y cocido se tomó 8 ml de la suspensión metanólica, en vez de 1 ml, como Rodríguez propuso para las variedades que ella analizó.

2.7 Determinación del nitrógeno soluble en NaOH 0.02 N: con el fin de extraer al máximo el nitrógeno soluble se modificó el método original (22). En este caso se hizo 3 extracciones consecutivas de la muestra con NaOH 0.02N, recogiendo el sobrenadante y llevando a un volumen de 150 ml. Las muestras analizadas por nitrógeno soluble fueron frijol crudo y cocido, dietas basales y heces fecales.

2.8 Cuantificación de fibra insoluble y soluble y proteína indigerible in vitro: Se utilizó el método de Asp y col (6), el cual se modificó ligeramente con el fin de utilizar el material de laboratorio y reactivos disponibles.

La pepsina utilizada fue de la casa Merck con actividad de 1m Anson/mg, de la cual se le agregó a cada muestra 1 g que equivale a 14 unidades de enzima. Previo al análisis de las muestras se estableció la cantidad de enzima a agregar, en cuyo caso se pesó diferentes cantidades de pepsina de modo que se agregó 5, 10, 14 y 28 unidades de pepsina por gramo de muestra de frijol. En el residuo de fibra insoluble se determinó el contenido de nitrógeno, encontrándose que 14 unidades de pepsina/gramo de muestra dio el menor contenido de nitrógeno indigerible.

La pancreatina utilizada fue de la casa The New York Quinine and Chemical Works, Inc (USP). Se agregó un gramo de esta enzima por gramo de muestra otorgando no menos de 25 unidades USP de actividad de amilasa, no menos de 20 unidades USP de actividad de lipasa y no menos de 25 unidades USP de actividad de proteasa. La amilasa termorresistente, Termamyl, utilizada fue la que el método recomienda.

Se pesó un gramo de las muestras de frijoles y dietas basales; mientras que de heces se tomó entre 0.4 y 0.5g, cantidad que dificulta un poco menos la filtración de las muestras. La cantidad de enzimas agregadas fue la misma que cuando se utilizó frijol, aunque se redujo el peso de la muestra; ya que el contenido de nitrógeno en las heces es casi el doble que el del frijol liofilizado, asumiéndose de este modo que toda la proteína digerible sería hidrolizada.

El análisis de fibra se realizó en frijoles cocidos, dietas basales y muestras de heces de 4 individuos seleccionados en base a diferentes niveles de digestibilidad de los frijoles.

2.9 Análisis de aminoácidos: se realizó en los "pools" de frijol cocido y dietas basales, y en las muestras de heces de los 4 individuos a los que se les hizo fibra.

Previo al análisis de las muestras, se compararon los resultados del análisis de A.A. obtenido en muestras con y sin grasa. Se observó que no era necesario desgrasar las muestras, ya que los resultados obtenidos fueron semejantes.

Se utilizó hidrólisis ácida, con ácido clorhídrico 6N. Se pesó la cantidad de muestra que contuviera 2 mg de nitrógeno, se realizó la hidrólisis en un horno con aire, durante 2 horas a 140 C de temperatura.

Para el análisis de los A.A. se utilizó el analizador Technicon, según el método establecido por la casa (92).

2.10 Cuantificación de D-triptofano: se realizó en los "pools" de frijoles cocidos y dietas basales y las heces de los 4 sujetos seleccionados utilizando el método químico (135).

El método original tiene 1 sólo blanco, compuesto por la solución de papaína y el reactivo de color (FeCl₃ y H₂SO₄). Los frijoles, dietas basales y heces contienen pigmentos que se solubilizan en el hidrolizado e interfieren en la lectura espectrofotométrica, por lo que fue necesario introducir otros 2 blancos para cada muestra. Uno de los blancos cuantifica triptofano libre, además de los interferentes (pigmentos) y el otro blanco cuantifica sólo pigmentos. La composición del blanco que cuantifica pigmentos más triptofano libre consiste en: buffer de acetato de sodio sin papaína más muestra, no ocurriendo hidrólisis de la muestra; luego se agrega el reactivo de color. El otro blanco (sólo cuantifica pigmentos) se prepara agregando a la muestra la solución de papaína en buffer de acetato; no se le agrega el reactivo de color.

El cálculo se realiza restando a la muestra que cuantifica el triptofano hidrolizado, triptofano libre y pigmentos; el blanco de la muestra que cuantifica pigmentos más triptofano libre; cuantificándose únicamente el triptofano hidrolizado al cual se le suma el triptofano libre, obtenido al restar del blanco que cuantifica el triptofano libre más los pigmentos el blanco de pigmentos. La suma del triptofano hidrolizado y el libre es el triptofano total.

2.11 Lisina disponible: se analizó en muestras de frijol cocido no frito y frito, con el fin de descartar si la fritura daña la proteína del frijol.

Se reconstituyó frijol cocido liofilizado con agua, se le agregó aceite y cebolla en la proporción utilizada durante el estudio biológico, y se cocinó hasta consistencia de frijoles "en maleta". La muestra se secó en horno a 50 C° por 2 horas; después se molió y desgrasó para ser analizado por lisina disponible según el método de Conkerton y Frampton(27).

3. Cálculo de la digestibilidad de nitrógeno.

Los siguientes cálculos se realizaron en base al nitrógeno ingerido o excretado, expresado como mg/kg/día.

3.1 Porcentaje de digestibilidad aparente de nitrógeno total, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Digestibilidad aparente} = \frac{N \text{ ing} - N \text{ fecal}}{N \text{ ing}} 100$$

N ing= nitrógeno ingerido

3.2 Porcentaje de digestibilidad verdadera, se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Digestibilidad verdadera} = \frac{N \text{ ing} - (N \text{ fecal} - N \text{ fecal end})}{N \text{ ingerido}} 100$$

N fecal end= nitrógeno fecal endógeno

3.3 Porcentaje de digestibilidad aparente y verdadera de nitrógeno soluble en NaOH 0.02N: se utilizó la misma fórmula del punto 3.1 y 3.2, sólo que en vez de utilizarse el nitrógeno total se utiliza el dato de nitrógeno soluble.

4. Determinación de la calidad de la proteína.

4.1 Balance de nitrógeno: para su estimación se le restó a mg de nitrógeno ingerido/kg/día el nitrógeno total excretado/kg/día el cual incluye tanto el nitrógeno fecal como el nitrógeno urinario. Se esquematiza de la siguiente manera:

$$\text{Balance de nitrógeno} = N \text{ ingerido} - N \text{ excretado}$$

4.2 Utilización neta proteica (NPU): se calcula restando al BN durante el período de la dieta de frijoles o período de estudio (pe) al BN durante el período libre de nitrógeno (p DLN), y luego dividiéndose entre el nitrógeno ingerido total y multiplicándose el resultado por 100. La fórmula es:

$$NPU = \frac{(BN_{pe}) - (BN_{DLN})}{N \text{ ingerido}} \cdot 100$$

4.3 Valor biológico (VB): para su cálculo se utilizó la fórmula en que se corrige tanto el nitrógeno urinario (Nu) como el fecal (Nf) por el nitrógeno endógeno (N end) o metabólico (N met).

$$VB\% = \frac{N \text{ ing} - [(Nu - N_{met}) + (Nf - N_{end})]}{N \text{ ing} - (Nf - N_{end})} \cdot 100$$

5. Digestibilidad de la fibra dietética total (FDT)

Para calcularla se utilizó los datos de fibra insoluble y fibra soluble presentes en el Cuadro 7 ; para ello se sumó los 2 tipos de fibra para obtener la fibra dietética total.

La fibra dietética total se expresó como mg de fibra total ingeridas o excretadas/kg/día. La fórmula utilizada es la siguiente:

$$\% \text{ Dig. aparente de la fibra} = \frac{FDT \text{ ing} - FDT \text{ fecal}}{\text{dietética total} \quad FDT \text{ ingerida}} \cdot 100$$

Se calculó la digestibilidad verdadera de la fibra dietética total del mismo modo que la digestibilidad verdadera del nitrógeno total, previo a la corrección de la fibra fecal por la fibra fecal excretada durante el período bajo en nitrógeno.

6. Porcentaje de proteína digerible e indigerible vitro

Los resultados se obtuvieron durante la cuantificación de la fibra insoluble y soluble (6); la evaluación de la digestibilidad o no de la proteína es química, no biológica.

7. Disponibilidad de aminoácidos.

Los mg de A.A. cuantificados/g de nitrógeno de la muestra se expresaron como mg del A.A. ingerido o excretado/kg/día. Se calculó la absorción aparente y verdadera de cada A.A. de la siguiente manera:

$$\text{Absorción aparente del A.A.} = A.A. \text{ ing} - A.A. \text{ fecal}$$

$$\text{Abs. verdadera del A.A.} = A.A. \text{ ing} - (A.A. \text{ fecal} - A.A. \text{ fec end})$$

Dividiendo las absorciones verdaderas y aparentes de cada A.A. por el nitrógeno total ingerido, se obtiene las digestibilidades verdadera y aparente de c/u de los A.A.; además, el resultado se debe multiplicar por 100 para expresarlo como porcentaje de digestibilidad.

8. Análisis estadístico.

Se realizó análisis de regresión lineal y cuadrática; análisis de ANOVA en cuadrados latinos y bloques randomizados sin interacción; prueba de significación de Sheffé; análisis de ecuaciones polinomiales y su bondad de ajuste (78,97).

V. RESULTADOS

A. Análisis químicos.

1. Contenido de inhibidores de tripsina y hemaglutininas.

En el Cuadro 4 se observa que los factores antinutricionales descritos disminuyen o no son cuantificables en el frijol cocido. El frijol rojo crudo es el que posee un mayor contenido de inhibidores en comparación a las otras 2 variedades en el mismo estado; sin embargo, después de cocido la cantidad de inhibidores de tripsina/100 g de frijol seco es igual a la del frijol negro. El frijol blanco cocido es el que contiene menos cantidad de inhibidores. La cocción destruyó totalmente las hemaglutininas o por lo menos no fueron cuantificables.

2. Cuantificación de polifenoles.

Los polifenoles se cuantificaron por 3 diferentes métodos en las 3 variedades de frijol crudo y cocido, como se describe en el Cuadro 5. Se observa que el frijol blanco tanto crudo como cocido es el que presenta una menor cantidad de polifenoles en comparación a los frijoles rojo y negro. En los frijoles crudos es el de color rojo y en los cocidos el negro los que tienen más polifenoles, cuando se comparan a las otras 2 variedades de frijoles crudos y cocidos, respectivamente.

La cocción reduce los polifenoles cuantificables en un 9-90%, siendo las catequinas las que se reducen en mayor proporción y el ác. tánico el que menos se reduce durante la cección.

De los polifenoles cuantificados el ácido tánico (mét. de Folin Dennis) es el que se encuentra en mayor cantidad contrariamente a las catequinas que es la que se encuentra

en menor cantidad en las 3 variedades de frijol crudo y cocido. El contenido de polifenoles cuantificados por el método de Hagerman es intermedio entre los otros 2 métodos, en frijol crudo y cocido, exceptuando la variedad de color blanco. En el frijol blanco cocido no se pudo cuantificar el contenido de polifenoles, si es que hay, por el mét. de Hagerman.

3. Nitrogeno soluble e insoluble en NaOH 0.02N.

3.1 Frijoles: en el Cuadro 6 se aprecia que la cocción modifica la solubilidad de nitrógeno en álcali en los 3 frijoles. En el frijol crudo más o menos un 75% del nitrógeno total es soluble y en el cocido un 25%.

3.2 Dietas basales: aunque las dietas basales no deben contener nitrógeno, hay 0.3 g de nitrógeno total/100g de muestra; y éste es en su mayor parte soluble. La composición de la dieta basal durante el período bajo en nitrógeno es parecida a la del período en estudio, por lo que el contenido de nitrógeno total y el nitrógeno soluble en álcali es semejante.

3.3 Heces fecales: los datos de nitrógeno soluble e insoluble excretados que aparecen en el Cuadro 6 son la excreción promedio de los 12 individuos por color de frijol. Se observa que la excreción total de nitrógeno es similar en todas las dietas, sin embargo tanto con la dieta de frijol blanco como durante la dieta baja en nitrógeno la excreción de nitrógeno soluble fue mayor que en la de frijol negro y rojo.

La excreción de nitrógeno insoluble procedente de la dieta de frijol negro y rojo es bastante similar: 39 y 41% del nitrógeno total, y parecida en la dieta de frijol blanco y baja en nitrógeno, 34 y 33%, respectivamente.

4. Fibra soluble e insoluble y proteína digerible e indigerible: el método utilizado mide el residuo no soluble después de una hidrólisis enzimática, en el caso de fibra insoluble y mide el residuo soluble precipitado con etanol en el caso de fibra soluble. Tanto el residuo insoluble como el soluble contienen proteína indigerible y digerible; y ésta es restada de la fracción de fibra cuantificada.

4.1 Frijol cocido: el contenido de fibra dietética total (soluble e insoluble) es semejante en las 3 variedades de frijol, siendo un poco menor en el frijol rojo cocido tal como se observa en el Cuadro 7. La fibra insoluble es más abundante que la fibra soluble en los frijoles cocidos; la proporción promedio entre fibra dietética insoluble y soluble es de 2:1. El frijol blanco cocido es el que contiene más fibra dietética soluble.

En el frijol cocido hay más proteína indigerible que digerible. El frijol blanco es el que contiene menor cantidad de proteína indigerible; mientras el rojo y el negro tienen cantidades idénticas. Por otro lado, el frijol rojo es el que contiene mayor cantidad de proteína digerible en comparación al negro y blanco, que es muy semejante.

4.2 Dietas basales: aportan una cantidad importante de fibra total a las dietas a base de frijol, y en su mayor parte es fibra insoluble. El contenido de fibra soluble e insoluble de la dieta baja en nitrógeno es mayor que el de la dieta basal del período de frijoles. En ambas dietas basales el contenido de proteína indigerible es el doble que el de proteína digerible.

4.3 Heces fecales: los resultados que aparecen en el Cuadro 7 son la excreción promedio de fibra de los sujetos en cada dieta.

La excreción de fibra dietética total fue mayor durante la DBN que durante las dietas de frijol. Al comparar las excreciones de fibra insoluble procedente de dietas de frijoles, el negro es el que conlleva a una excreción mayor de fibra, mientras que el rojo y el blanco presentan cantidades similares.

La proteína indigerible es similar en el período bajo en proteína y de frijol negro, siendo 13.7 y 13.6 g%BS, respectivamente. En el caso del frijol rojo se excretó más proteína indigerible que en cualquiera de las otras dietas. Es importante destacar que la dieta a base de frijol blanco es la que tiene una menor cantidad de proteína indigerible y mayor cantidad de proteína digerible.

5. Análisis de A.A. en muestras de frijol cocido y dietas basales:

5.1 Lisina disponible en frijol frito y no frito: ya que el frijol que los individuos ingirieron estaba frito, se cuantificó el contenido de lisina disponible en la muestra frita y se comparó con el de la muestra no frita para ver si había ocurrido algún daño en la calidad de la proteína por efecto de la cocción. En el Cuadro 8 se puede apreciar una recuperación del 96-99% de la lisina del frijol frito en comparación al no frito en los 3 colores de frijoles. La recuperación de lisina en el frijol blanco frito fue la menor en comparación a la de los otros 2 frijoles.

5.2 Aminoácidos totales: en el Cuadro 9 aparece el contenido de los 17 A.A. y un subproducto de la hidrólisis ácida: el amoníaco, en los frijoles. En las 3 variedades de frijol no se pudo cuantificar la cistina y, en el frijol rojo la metionina utilizando la hidrólisis con HCl. En general, no se puede decir que una variedad de frijol contiene mayor cantidad de cada A.A. que las otras 2 estudiadas; pero el frijol blanco es el que contiene más metionina, treonina, triptofano y

valina; mientras que el frijol rojo es el que posee un mayor contenido de lisina total.

B. Evaluación biológica

1. Digestibilidad de nitrógeno total.

1.1 Digestibilidad aparente: en el Cuadro 10 aparecen los resultados de la digestibilidad de la proteína del frijol de cada individuo y la digestibilidad promedio no ajustada y ajustada; también aparecen las ingesta de nitrógeno diarias/kg de peso. Se puede observar que cada individuo difiere en su capacidad de digerir la proteína del frijol, presentando algunos una mayor o menor digestibilidad con respecto a resto. En base a esta diferencia de digestibilidad se seleccionaron 4 individuos con diferentes niveles de digestibilidad para analizar sus muestras de heces para A.A. y fibra dietética. Los niveles son : alto, medio alto, medio bajo y bajo, representados por los individuos con iniciales: CP, AS, AG y DV, respectivamente.

La digestibilidad promedio de la proteína de la variedad roja y negra es similar, 50.2% y 51.0%, en cada caso. La proteína del frijol blanco es la más digerible en comparación a las otras 2 variedades, ya que por cada 100g de frijol ingerido, 57.6 g son digeridos.

Los sujetos digirieron en forma más variable la proteína del frijol negro, pues el coeficiente de variación acusa 21.6%; mientras que la variación en digestibilidad de la proteína del frijol rojo y negro por individuo es mucho menor, del orden de la mitad del valor del frijol negro.

El análisis de varianza para la digestibilidad de la proteína de los frijoles se detalla en el Cuadro 12. Se encontró diferencia significativa ($P < 0.0975$) por tratamiento

(variedad de frijol); y no se encontró diferencia significativa ($p/0.05$) entre sujetos, tiempo (período) y efectos residuales. La digestibilidad promedio no ajustada en cada color de frijol difiere poco de la ajustada, como se describe en el Cuadro 10.

Se comparó la digestibilidad de un color de frijol frente a otro, hallando diferencia significativa ($/0.0675$) entre la digestibilidad aparente del frijol rojo y el frijol blanco; y una diferencia significativa ($/0.0975$) un poco mayor entre las digestibilidades de los frijoles negro y blanco. No se encontró diferencia ($p/0.1$) entre la digestibilidad del frijol rojo y negro.

1.2 Digestibilidad verdadera del nitrógeno total: el frijol de cáscara blanca es el que presenta una digestibilidad más alta (84.4%) en comparación a las variedades de color negro (78.7%) y rojo (78.2%), que difieren poco entre sí; tal como se observa en el Cuadro 11. No se encontró diferencia significativa ($p/0.05$) entre las digestibilidades de los 3 frijoles; si se utiliza un nivel de probabilidad mayor ($p/0.1$) tampoco se encontró diferencia significativa entre tratamientos. La variación en digestibilidad entre individuos que consumieron los 3 frijoles fue similar, el frijol negro es el que presenta un coeficiente de variación mayor (11.7%).

Al comparar el promedio no ajustado y el ajustado de las digestibilidades verdaderas, se observa que las medias de cada color son muy parecidas.

El análisis de varianza que aparece en el Cuadro 13 señala que no se encontró diferencia significativa ($p/0.05$) entre sujetos, tiempo y efecto residual al analizar los resultados de digestibilidad verdadera.

El nitrógeno fecal endógeno promedio de los 12 individuos fue 31.3 ± 2.7 mg/kg/día, el cual se estimó durante la DBN y se utilizó para calcular la digestibilidad verdadera.

2. Balance de nitrógeno en humanos adultos; los resultados de balance de nitrógeno aparecen en el Cuadro 14.

Durante el período de DBN todos los individuos estuvieron en balance negativo, con valor promedio de -55.9 ± 8.4 mg/kg/d. No se puede obtener el promedio ajustado durante este ensayo, ya que no se incluye dentro del análisis de varianza.

El frijol de color blanco presenta el balance nitrogenado promedio ajustado y no ajustado más alto, en comparación a las otras 2 variedades estudiadas. El frijol con cáscara roja es el de menor balance (-20.6 mg/kg/d), y el negro es el intermedio (-16.3 mg/kg/d). Las medias ajustadas de BN entre frijol negro y rojo, -18.3 y -18.9 mg/kg/d, difieren poco.

Tanto el frijol negro como el blanco tiene valores de BN de alta variación, siendo éste mayor al 100% en ambos casos. El alto coeficiente de variación se debe a que en ambos frijoles se encuentra por lo menos 1 individuo en balance positivo, y el resto en balance negativo. Cuando los individuos ingirieron frijol rojo siempre se encontraron en balance nitrogenado negativo.

El análisis de varianza de los BN se encuentra en el Cuadro 16, donde se observan diferencias significativas ($p/0.05$) entre sujetos y por períodos entre cuadrados (tiempo). No se aprecia diferencia significativa ($p/0.05$) por efecto de tratamiento, ni por efectos residuales de las dietas anteriores.

En la Gráfica 1 se grafica el nitrógeno ingerido por día vs el BN, obteniéndose las siguientes ecuaciones de regresión: $y = -66.9 + .47x$, $y = -65.8 + .43x$ y $y = -64.9 + .40x$ para frijoles blanco, negro y rojo, respectivamente. Las ecuaciones descritas tienen una correlación lineal alta (0.84-0.88) e indican:

- a) el nitrógeno endógeno excretado total (fecal+ urinario): -66.9, -65.8 y -64.9 mg/kg/d, para frijoles blanco, negro y rojo.
- b) el parámetro NBI (índice de balance nitrogenado), que es la pendiente de la ecuación de regresión; siendo 0.47 para frijol blanco, 0.43 para negro y 0.40 para rojo, y describe en forma decreciente la calidad de la proteína del frijol.
- c) nitrógeno requerido para mantenimiento. Es cuando el BN es 0, y se señala en la gráfica como el intercepto en x (nitrógeno ingerido) cuando $y=0$ (BN). Se necesitan 143.3 mg de nitrógeno de f. blanco, 151.4 mg de N de f. negro y 163.9 mg de N de f. rojo/kg/día, para que los individuos pierdan la misma cantidad de nitrógeno con respecto al ingerido.

3. Utilización proteica neta (NPU): en el Cuadro 15 aparecen los valores de NPU de las dietas a base de frijol. Los promedios no ajustados para el frijol blanco, negro y rojo son: 37.2, 35.0 y 31.6%, respectivamente. Se nota que el frijol blanco es el que tiene un mayor valor de utilización proteica, y la variedad roja es la que tiene el menor valor cuando se comparan tanto medias no ajustadas como ajustadas.

La variabilidad en los resultados de NPU cuando se consumió la dieta de frijol negro es la más alta, mientras que la del blanco es la más baja. También se observa, que un sujeto durante la ingesta de frijol negro presentó un valor de NPU negativo.

Estadísticamente no se encontró significado ($p/0.05$) al comparar los valores de NPU por color de frijol, como se describe en el Cuadro 17. Sin embargo, se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p/0.05$) por sujetos y períodos entre cuadrados. No se encontró significancia ($p/0.05$) por efecto residual.

4. Valor biológico (VB): los valores no ajustados de VB obtenidos en las 3 variedades de frijol oscilan entre 68.4 y 69.8% como se aprecia en el Cuadro 18, y el coeficiente de variación es de 21.0-27.8%. El VB promedio ajustado y no ajustado fue mayor en el frijol rojo, que en el negro y el blanco, siendo el de la variedad blanca el menor de todos.

El análisis de varianza de los cuadrados latinos descrito en el Cuadro 19 señala que no se encontró diferencia significativa ($p/0.05$) por tiempo, efecto residual y tratamiento, siendo esta última insignificante. La relación entre VB y sujetos es altamente significativa al $\alpha/0.05\%$.

5. Digestibilidad de nitrógeno soluble en NaOH.

5.1 Digestibilidad aparente del nitrógeno soluble: la digestibilidad aparente del nitrógeno soluble en álcali es baja, como figura en el Cuadro 20. La proteína cruda soluble del frijol blanco es la más digerible (11.3%), siguiendo la del frijol negro (9.4%) y por último la del f. rojo (6.0%). Las medias ajustadas de las 3 variedades de frijol guardan el mismo orden de digestibilidad que el de las no ajustadas. La variabilidad de la digestibilidad del nitrógeno soluble en NaOH es alta en los frijoles estudiados, y es mayor del 139% en los frijoles coloreados. Esta variabilidad tan alta se debe a que mientras algunos individuos retienen hasta el 40% del nitrógeno absorbido, otros no retienen nada.

En el Cuadro 22 se señalan diferencias estadísticamente no significativas ($p/0.05$) por tratamiento, sujetos, efectos residuales y tiempo.

5.2 Digestibilidad verdadera de nitrógeno soluble en NaOH: los datos de digestibilidad verdadera del nitrógeno soluble en álcali aparecen en el Cuadro 21, siendo ésta del orden del 60%. El frijol de cáscara blanca es el que tiene una mayor digestibilidad (66.7% no ajustada y 65.7% ajustada); el frijol de color negro y rojo tienen una digestibilidad parecida (60.6 y 59.2%), aunque en el frijol rojo es un poco menor. Para el cálculo de la digestibilidad verdadera de nitrógeno soluble se requirió un nitrógeno fecal endógeno soluble en álcali de 20.6 ± 2.8 mg/kg/día.

El análisis de varianza (Cuadro 23) indica la no significancia ($p/0.05$) entre los valores de digestibilidad de nitrógeno soluble en NaOH y las fuentes de variación, siendo las F del efecto residual y el directo ajustado insignificante. El error experimental es alto.

6. Digestibilidad de la fibra dietética total.

6.1 Digestibilidad aparente de la fibra dietética total: la fibra dietética del frijol rojo presenta la mayor digestibilidad (56.2%), siendo menores en el f. negro (49.6%) y el f. blanco (47.2%), como se aprecia en el Cuadro 24. Se observa que la variabilidad de la digestibilidad del frijol negro es baja (6.9%), en comparación a las obtenidas en los frijoles de color rojo (20.6%) y blanco (24.2%). El análisis de varianza que se le realizó con los datos indica que estadísticamente no se encuentra ($p/0.05$) por sujetos y tratamiento (Cuadro 25).

6.2 Digestibilidad verdadera de la fibra dietética total: en el Cuadro 26 aparecen los resultados de digestibilidad verdadera de la fibra dietética total, observándose que la fibra del f. blanco (87.2%) es la más disponible, luego la del f. rojo (85.8%) y por último el f. negro (80.7%). No se encuentra diferencia significativa ($p/0.05$) por sujetos y tratamientos, como se aprecia en el Cuadro 27.

7. Correlaciones lineales entre medidas biológicas y nitrógeno soluble en álcali excretado: las medidas biológicas correlacionadas fueron: digestibilidad aparente y verdadera de nitrógeno total, balance de nitrógeno, utilización proteica neta y valor biológico. Además, se incluye el nitrógeno soluble en NaOH excretado.

7.1 Frijol negro: se observa en el Cuadro 28 una correlación altamente significativa ($p/0.05$) entre digestibilidad aparente y digestibilidad verdadera, BN, NPU y N soluble excretado; el BN también presenta una correlación alta ($p/0.05$) con NPU, VB y N soluble excretado; y por último el NPU se correlaciona altamente con el VB y el N soluble excretado. Debe señalarse que las correlaciones entre medidas biológicas y el nitrógeno excretado es siempre negativa. La correlación entre las digestibilidades aparente y verdadera y el VB en el frijol negro es baja.

El grado de asociación entre la digestibilidad aparente (DA,%) y el balance de nitrógeno (BN, mg/kg/día) se incrementó al utilizar una ecuación de regresión cuadrática ($r^2=+0.88$) en comparación a la lineal ($r^2=+0.76$) descrita en el Cuadro 28. La ecuación para f. negro es: $BN = -205.2 + 6.5DA - 0.05DA^2$.

7.2 Frijol rojo: en el Cuadro 29 se observa una correlación altamente significativa ($p/0.05$) entre las digestibilidades

aparente y verdadera, y estas dos con respecto al nitrógeno soluble excretado. Las medidas de balance se correlacionaron significativamente ($p/0.05$) entre sí. No se aprecia correlación lineal ni se encontró un r^2 significativo entre las digestibilidades y las medidas de balance; tampoco entre los balances y el nitrógeno soluble excretado.

7.3 Frijol blanco: las correlaciones que se observan entre las medidas biológicas-nitrógeno soluble excretado en f. blanco, son semejantes a las descritas anteriormente en el f. rojo, y aparecen en el Cuadro 30.

7.4 Total: al graficar los valores de digestibilidad aparente (DA,%) con los de balance nitrogenado (BN, mg/kg/d) de las 3 variedades de frijol se encontró que la mejor ecuación de regresión para describir el comportamiento de ambos análisis biológicos fue la ecuación de regresión cuadrática, que tiene una r^2 de +0.26 y es estadísticamente significativa ($p/0.05$). La ecuación es: $BN = -184.1 + 6.1DA - 0.05DA^2$ y aparece en la Gráfica 2. Se observa que conforme aumenta la digestibilidad de la proteína, la retención de nitrógeno aumenta hasta un valor máximo de +1.95 mgN/kg/d, al cual le corresponde una digestibilidad aparente de 61.0%; incrementos de digestibilidad mayores de 61% conducen a balances nitrogenados decrecientes.

8. Regresiones entre la ingesta de taninos y la digestibilidad aparente: en las Gráficas 3 y 4 aparecen las ecuaciones de regresión entre la digestibilidad aparente y las catequinas y el ácido tánico ingerido; se observa una correlación baja, estadísticamente no significativa ($p/0.05$), pero inversa entre ambas variables.

Los promedios de ingestas de taninos, excreción fecal de

nitrógeno total y digestibilidad aparente de la proteína de los frijoles aparecen en el Cuadro 31. Al ingerir una menor cantidad de taninos se excreta menos proteína y, por lo tanto, es más digerible, tal como se aprecia en la dieta de f. blanco. Aunque las ingestas de taninos de los frijoles coloreados visualmente parecen diferentes, se obtuvo digestibilidades semejantes, lo cual se refleja en la baja correlación que tiene la ecuación de regresión lineal.

9. Regresiones entre nitrógeno fecal soluble en NaOH y fecal total: en la Gráfica 5 aparecen las ecuaciones de regresión entre el nitrógeno soluble y total excretado, obteniéndose una correlación alta (0.67-0.87) entre ambas determinaciones. El grado de asociación (r) entre una y otra variable es de 0.45, 0.50 y 0.74 para frijoles negros, blancos y rojos, respectivamente.

También se correlacionó el ácido tánico, catequina, inhibidores de tripsina, fibra insoluble, proteína indigerible y nitrógeno soluble ingeridos con el nitrógeno fecal total en cada color de frijol. La correlación lineal fue siempre baja entre cada par de variables; en el caso del frijol negro fue siempre negativa y varió entre -0.26 a -0.28, mientras que en los frijoles rojo y blanco fue positiva (+0.19 y +0.15).

10. Predicción de la digestibilidad aparente de la proteína del frijol cocido: en la Gráfica 6 se puede apreciar las ecuaciones lineales o cuadráticas predictoras de la digestibilidad aparente del frijol.

10.1 Contenido de catequinas en frijoles cocidos como predictores de la digestibilidad.

La ecuación propuesta es: $y = 52.91 - 0.49c_1 + 0.12c_2$
donde, $y =$ %digestibilidad aparente ajustada

c_1 = coeficiente lineal = $-18.3 + \text{catequina}$
 c_c = coeficiente cuadrático = $324.57 - 37.49\text{cateq} + \text{cateq}^2$
 La catequina debe expresarse en mg%BS.

10.2 Predicción de la digestibilidad aparente a partir del contenido de inhibidores de tripsina en el frijol cocido. Las unidades totales de tripsina (UT de IT%BS) pueden ser utilizadas para predecir la digestibilidad aparente (y) de la proteína del frijol utilizando la siguiente ecuación:

$$y = 52.91 - 4.12c_c, \quad c_c = -5.73 - \text{UT de IT}$$

10.3 Ecuación predictora de la digestibilidad aparente a partir del contenido de proteína indigerible del frijol cocido.

La ecuación a utilizar es: $y = 52.91 - 3.89c_c$,
 $c_c = -5.9 + \text{proteína indigerible (g\%BS)}$

No se pudo encontrar ecuación matemática capaz de predecir la digestibilidad proteica aparente a partir del contenido de ácido tánico, nitrógeno soluble y fibra insoluble en los frijoles. Los valores de las Variables dependientes e independientes se expresaron de diversas formas: raíz cuadrática, log en base 10 y en base natural y como el nivel por log n; para tratar de linearizar los datos y poder calcular una ecuación polinomial.

11. Puntaje de aminoácidos(A.A.): el puntaje de A.A. permite predecir en forma química el valor de la proteína, siendo el que tiene un menor valor el A.A. limitante. Los resultados que aparecen en el Cuadro 32 indican que los aminoácidos azufrados (A.A.S.) son el primer A.A. limitante (0-0.24 de puntaje), en segundo lugar el triptofano (0.50-0.56 de puntaje); en tercero la valina (0.80-0.87) y por último la treonina (únicamente en f.rojo, 0.88, y en f. negro, 0.93).

12. Absorción y digestibilidades aparentes y verdaderas de A.A. en dietas a base de frijoles.

Los A.A. totales ingeridos provienen de la dieta basal en menor cantidad, y en gran parte de la proteína del frijol, como se aprecia en los Cuadros 33, 34 y 35. Los valores expresados en los anteriores cuadros son el promedio más y menos una desviación estándar de los 4 individuos seleccionados, como anteriormente se explicó.

12.1 Frijol negro: las ingestas promedio de los 18 A.A. cuantificados osciló entre 4.17-76.03 mg/kg/d y la excreción fecal durante la dieta de f. negro entre 2.67-32.17 mg A.A./kg/d. La excreción de A.A. durante la dieta baja en nitrógeno fue mucho menor que en la dieta bajo estudio, oscilando entre 1.88 para el triptófano y 15.98 mg/kg/d para la lisina.

La absorción aparente de los A.A fue positiva en todos los casos, excepto en uno, la metionina, en que se encontró una mayor excreción del A.A. sin embargo, el parámetro de absorción verdadera indica que hubo una mayor absorción que excreción de todos los A.A.

La digestibilidad aparente promedio de los 18 A.A. de la dieta de frijol negro es de $48,6 \pm 15.9\%$; cuando se excluye la metionina aumenta a $51.4 \pm 10.6\%$. De igual forma, para la digestibilidad verdadera, el valor promedio es de $80.0 \pm 11.8\%$ de digestibilidad de los 18 A.A., y ligeramente mayor cuando se excluye la metionina ($80.3 \pm 6.7\%$).

12.2 Frijol rojo: en el Cuadro 34 se observa que las ingestas totales de aminoácidos en el período de frijol osciló entre 0 y 63.26 mg/kg/d y se excretó entre 3.01 y 28.04 mg A.A./kg/d. Durante el período bajo en nitrógeno la excreción promedio de los A.A. fue de 9.49 ± 4.67 mg/kg/día.

La absorción aparente y verdadera de los A.A. es positiva en 17 A.A. y negativa en 1, la metionina. La digestibilidad aparente varió entre 0-63.1%, con una media de $44.0 \pm 15.1\%$; si se excluye a la metionina fue de $46.6 \pm 10.7\%$. El promedio de la digestibilidad verdadera fue $77.16 \pm 6.1\%$ cuando se excluye la metionina y $72.8 \pm 19.1\%$ al incluirla.

12.3 Frijol blanco: las ingestas totales de A.A. del ensayo de frijol blanco son de 4.54 a 76.97 mg/kg/d; siendo su excreción fecal durante la dieta del frijol 3.21-24.76 mg/kg/d. Los datos aparecen en el Cuadro 35.

La absorción aparente de metionina es negativa (-2.85 mg/kg/d), y es positiva (1.80 mg/kg/d) cuando se corrige por la excreción endógena.

Valores promedios de digestibilidades aparentes y verdaderas de los A.A. de la dieta del período de frijol blanco son: $48.5 \pm 17.8\%$ y $78.8 \pm 14.6\%$, respectivamente; al excluir la metionina los valores se incrementan en un 3% aproximadamente, y se reduce el coeficiente de variación.

VI. DISCUSION

1. Factores antinutricionales

En el presente trabajo se observa el efecto de la cocción sobre los factores antinutricionales del frijol, el cual consiste en una disminución o eliminación de éstos en el material adecuadamente cocido. El contenido de inhibidores de tripsina se redujo en un 28-73%, pero no desaparecieron del todo debido a la presencia de la fracción antitriptica termoestable. La fracción inhibitoria de la tripsina que desaparece por cocción, es llamada factor lábil al calor o inhibidor de tripsina verdadero (38).

El frijol blanco es el que contiene una actividad antitriptica residual menor (4.6 UT de IT/ml de extracto), posiblemente debido a que posee la menor cantidad de taninos; mientras los frijoles coloreados cocidos contienen 6.3 UT de IT/ml y una mayor cantidad de taninos. Elías y Fernández (38) han sugerido que el factor resistente al calor con actividad inhibitoria de tripsina son los taninos.

En vista que hay factores inhibidores de la tripsina que no son destruidos por la cocción, se sugiere seguir la técnica desarrollada por Fernández y col (43), con la cual logró cuantificar la inhibición triptica verdadera (proteínas) de la ocasionada por los polifenoles. Al igual que Fernández(43) se cree que posiblemente la actividad inhibitoria residual después de la cocción de los frijoles es dada por los polifenoles, ya que el factor inhibitorio verdadero es destruido en su mayor en su mayor parte por el calor (38). Como las 3 variedades de frijoles cocidos estudiados contienen actividad inhibitoria de tripsina residual, posiblemente ésta contribuya en la disminución de la digestibilidad proteica.

Estadísticamente se encontró que los inhibidores de tripsina tienen un efecto significativo en la reducción de la digestibilidad de la proteína del frijol cocido, como se puede observar en la Gráfica 6; la ecuación obtenida para calcular la digestibilidad de la proteína se ajusta para dicho fin al hacerle la prueba de F. Hernández (60), encontró una correlación entre los inhibidores de tripsina con el coeficiente de digestibilidad in vivo ($r=0.80$) y la calidad de la proteína en frijoles medida por el índice de eficiencia proteica, lo que sugiere que los inhibidores de tripsina tienen un efecto sobre la digestibilidad y el valor nutritivo de las proteínas del frijol.

Si el contenido de UT de IT del frijol cocido fuera 0, la digestibilidad aparente sería de 76.5% al utilizar la ecuación de la Gráfica 6; o sea que la digestibilidad se incrementaría en un 23.6%, por lo que se podría atribuir a los inhibidores de tripsina casi un 31% de la disminución de la digestibilidad de los frijoles.

Los valores de inhibidores de tripsina en los frijoles cocidos estudiados concuerdan con los informados en la literatura (60), y un mayor tiempo de cocción posiblemente no los habría reducido más, ya que no se ha encontrado estadísticamente que el tiempo de cocción tenga un efecto significativo en la destrucción de los inhibidores de tripsina (60).

González (51) no encontró relación alguna entre el color del frijol y el contenido de hemaglutininas tal como se observa en las variedades estudiadas, pues el f. rojo y el f. blanco crudo tienen igual actividad de hemaglutininas (6 dilución positiva), mientras el f. negro posee una mayor actividad (9 dilución positiva). En el frijol cocido no se detectaron hemaglutininas, tal como otros autores lo señalan (47,114), por lo que se podría pensar que no van a intervenir en la digestibilidad. Reckland y co (114) formulan que los complejos proteína-hemaglutininas formados aunque inactivados por el calor no son dis-

ponibles al organismo.

Al igual que los inhibidores de tripsina las hemaglutininas deberían separarse de los polifenoles utilizando el método con polivinilpirrolidona (PVP) (43), ya que se encontró una correlación alta ($r=0.93$) entre las hemaglutininas y los polifenoles de cáscar del frijol. Estos resultados sugieren que aunque no se detectan hemaglutininas en el frijol completo, sí las hay en la cáscara y ellas van a afectar la digestibilidad en algún grado. Además, se cree que estas hemaglutininas residuales son polifenoles ya que al agregar PVP al extracto de frijol cocido no se cuantifican HA en cáscara, cotiledón y f. completo(43).

2. Taninos

Los niveles de taninos encontrados en los 3 colores de frijol son diferentes, siendo menores en el f. blanco en todos los casos. La cocción reduce el contenido de taninos en un 9 a 50% cuando se expresan como ác. tánico (método de Folin Dennis), 64 a 72% expresados como ác. tánico evaluados por el método de Hagerman (57), y en 45 a 90% expresados como catequinas. Las pérdidas de equivalentes de catequina durante la cocción de los frijoles pareciera ser mayor que las de ác. tánico cuando se usa como indicador del contenido de polifenoles, al igual que lo indican Linares y Bosque (85).

El contenido de catequinas en los frijoles cocidos negro, rojo y blanco es de 24.9, 19.4 y 12.3 mg%BS, respectivamente. Hernández (60) halló en f. negro procedente de Jalpatagua e I-pala 35.5 y 60.1 mg catequina %BS; en f. rojo 27.4 mg%BS y en f. blanco 7.5 mg%BS. Aunque el contenido de catequina difiere, posiblemente debido a que son diferentes variedades, llama la atención que siguen el mismo gradiente en contenido de catequinas por color de frijol.

Cuando se incluye el caldo de remojo y de cocción de los frijoles el contenido de ác. tánico es mayor en f. negros (544.5 mg%BS), que en rojos (401.8 mg%BS) y en blancos (262.1 mg%BS). Los valores asemejan a los encontrados por Elías y col (37): 470 mg%BS de ác. tánico en f. negro, 415 mg%BS en f. rojo y 210 mg%BS en f. blanco. Rodríguez (115) informó 919.0, 866.0 y 334 mg de ác. tánico %BS, para f. rojo, negro y blanco cocido con caldo. Los valores aparentemente mayores, se debe al incremento del volumen del extracto que introdujo (115) en el método de Folin Dennis (25), lo cual da una mayor capacidad de cuantificación de polifenoles.

El método de Hagerman Butler (57) cuantifica taninos bioquímicamente activos, expresados como mg de ác. tánico %BS, siendo en f. negro y rojo cocido 105.4 y 151.9 mg%BS, respectivamente. En el f. blanco cocido no se pudo cuantificar taninos por este método, posiblemente debido a que las cantidades de polifenoles en el f. blanco capaces de precipitar la proteína (albúmina bovina) son tan mínimas que no son detectables por este método, o simplemente existe la posibilidad de que la muestra contenga otros tipos de compuestos fenólicos que no reaccionan con el cloruro férrico, pero sí pueden precipitar la proteína (115). El porcentaje de reducción por cocción de ác. tánico por el método de Hagerman-Butler fue de 72 y 64% para los f. rojos y negro, y los informados (115) son 96 y 66%, respectivamente.

Siendo la capacidad de unirse a las proteínas la característica nutricional de mayor importancia de los taninos (103, 124), se comparó los diferentes niveles de taninos ingeridos en frijoles con las digestibilidades de la proteína, aparente y promedio. En la Gráfica 3, se observa que las catequinas provocan una disminución en la digestibilidad de la proteína y, por consiguiente, se disminuye el valor nutritivo de la dieta, como se aprecia en menores valores de NPU, BN y VB en frijoles

coloreados en comparación a los blancos. Estos resultados coinciden con los que aparecen en numerosos estudios (18,29,45,60). Linares y Bosque (85) encontraron en frijoles cocidos que el contenido de catequinas correlacionó significativamente ($r=0.40$) con la digestibilidad de la proteína evaluada en ratas.

Si no hubiesen catequinas cuantificables en el extracto de frijol cocido la digestibilidad aparente de la proteína sería de 100%, utilizando la ecuación de la Gráfica 6. Esta digestibilidad total obtenida puede interpretarse de dos modos, ya que la ausencia de catequinas en el extracto puede deberse a:

- 1) que se hubiese ligado en su totalidad a la proteína del frijol, en cuyo caso no sería posible obtener en forma real una digestibilidad de 100%, pues el polifenol unido a la proteína forma un complejo indigerible.
- 2) poseer un frijol crudo sin catequinas; o sea que no habría catequinas que se unieran a la tripsina y, por lo tanto, sería totalmente digerible. Sin embargo, aún no se ha mencionado en la literatura sobre frijoles comunes sin catequinas.

Tales explicaciones hacen dudar de la capacidad predictora de dicha ecuación; por lo que parecería recomendable analizar más variedades de frijol común por su contenido de catequinas y digestibilidades aparente in vivo, de modo que se obtuviera una ecuación de mejor capacidad predictiva.

Si se compara el incremento en D.A. cuando el contenido de IT y de catequinas es de 0, se observa que ambas incrementan la disponibilidad proteica, pero no coinciden, pues la ausencia de catequinas eleva teóricamente la digestibilidad aparente de la proteína al doble (48%) de lo que la eleva la falta de IT (24%). Se sugiere que los IT residuales son en su mayor parte polifenoles.

Aunque se confirma el hecho que los polifenoles reducen la digestibilidad de la proteína del frijol, la ecuación calculada no pareciera poseer la capacidad predictora adecuada en los casos en que el contenido de catequina fuera cero o cercano a éste. Sin embargo, al utilizar la ecuación de regresión lineal que aparece en las Gráficas 3 y 4 la digestibilidad aparente se incrementaría de 51 a 59.2% cuando no se ingerieran catequinas; mientras al no ingerir ácido tánico la D.A. sería de 58.5%. El incremento en digestibilidad que resulta por ausencia de taninos varía entre 8.5 y 9.0%. El valor coincide con el obtenido en otro estudio (24), en que se ha señalado que los taninos son responsables únicamente del 7% de la disminución de la D.A. Se sugiere analizar más muestras y calcular ecuaciones adecuadas para poder asegurar el valor de reducción por taninos, en vista de la poca concordancia obtenida en las ecuaciones.

Cuando se compara el contenido de ácido tánico de los frijoles con las D.A. promedios también se observa que tiene un efecto detrimental sobre la digestibilidad, aunque no se encontró significado estadístico entre ambos. Hernández (60) encontró que el ácido tánico ingerido tiene un efecto semejante al de la catequina sobre el nitrógeno absorbido, sólo que menor, tal como se discutió anteriormente. Se puede sugerir, tal como otros autores lo han señalado (60,130), que los taninos condensados serían, entre los fenoles, uno de los factores más responsables de la disminución de la digestibilidad.

Es lamentable que no se pueda comparar el contenido de ácido tánico (método de Hagerman-Butler) con la digestibilidad de la proteína por la falta de valores en el f. blanco cocido, ya que este ensayo bioquímico, conveniente y reproducible según Rodríguez (115), provee información de la actividad biológica de los taninos que contienen los alimentos, la cual no puede ser obtenida por ensayos químicos.

El contenido de polifenoles de los frijoles puede expresarse por medio de la ecuación de regresión lineal entre su ingesta y D.A. obtenida. Se obtuvo correlaciones negativas y bajas (-0.22 para el ácido tánico y -0.24 para catequina ingerida). Ambas correlaciones no resultaron ser significativas ($p < 0.05$), a diferencia de lo encontrado por Hernández (60): $r = 0.35$ para catequinas ingeridas y $r = 0.32$ para ácido tánico. La posible explicación de la ausencia de significancia, es que el contenido de taninos en las 3 variedades de frijoles estudiadas es bastante similar, lo que impide separar los resultados y al hecho bien conocido que según la capacidad digestiva "per se" de cada individuo que conforma el grupo de estudio así será la digestibilidad promedio obtenida. Sería conveniente además de lograr significancia, obtener correlaciones mayores entre variables.

3. Nitrógeno soluble en NaOH 0.02N

En el frijol crudo la mayor parte de la proteína es soluble en álcali: 64.2, 74.8 y 78.7%, en frijoles negros, blancos y rojos, respectivamente, coincidiendo con lo ya informado (22, 123). Por el contrario, en el frijol cocido la mayor parte del nitrógeno resulta ser insoluble en NaOH, siendo los porcentajes de nitrógeno soluble con respecto al nitrógeno total en f. negro, rojo y blanco: 24.8, 27.3 y 27.5%. Bressani (22) encontró cantidades aun menores de nitrógeno soluble proveniente del frijol, 23.3% en blancos, 15.2% en negros y 17.1% en rojos; el solvente utilizado fue agua. Al utilizar NaCl 0.1M como solvente los porcentajes de nitrógeno soluble fueron ligeramente menores. Las diferencias en el contenido de nitrógeno soluble entre los resultados de Bressani (22) y los de este estudio, se deben en gran parte al solvente utilizado, pues el NaOH es el mejor extractor del nitrógeno soluble de la proteína del frijol (98).

La modificación en la solubilidad del nitrógeno al cocer el frijol (123) se debe a la desnaturalización de la proteína por la cocción, modificándose sus propiedades físico-químicas y, posiblemente en parte, a interacciones entre la proteína y diferentes compuestos (taninos, hemaglutininas y carbohidratos).

Las dietas basales bajas en proteína contienen en su mayor parte nitrógeno soluble, el cual resultó ser poco digerible. Cuando se analizó las heces por solubilidad de nitrógeno se encontró que la mayor parte es soluble (60-65%), tanto el proveniente de la dieta baja en nitrógeno como en la del frijol.

4. Fibra dietética soluble e insoluble

La cantidad de fibra dietética total en f. rojo, blanco y negro cocidos fue: 27.3, 28.2 y 28.4 g%BS. Utilizando este mismo método Asp y col (6) encuentran en f. P. vulgaris crudo color café, una cantidad de fibra dietética total de 18.7 g%BS, menor a la encontrada en el presente estudio. Estas diferencias en el contenido de fibra pueden deberse principalmente a la variedad de frijol estudiada y al efecto de la cocción sobre la fibra, que destruye parcial o totalmente los inhibidores enzimáticos que podría interferir con una adecuada liberación de la fibra dietética total.

La fracción de fibra dietética insoluble representa un 67-71% (19.1-20.9 g%BS) de la total mientras que la fracción soluble es la restante conteniendo 7.5, 8.0 y 9.1 g%BS de fibra dietética soluble en los f. negros, rojos y blancos, respectivamente. Hellendoorn (59) expresa que el contenido de carbohidratos indigeribles totales en frijoles es de 15-20%, valor semejante al de fibra dietética insoluble en frijoles cocidos.

El mayor contenido de fibra dietética soluble en el frijol blanco pareciera coincidir con el conocido efecto intestinal

indeseable en este color de frijol, debido a un mayor contenido de los oligosacáridos estaquiosa, rafinosa y verbascosa, que al no ser digeridos por el individuo son utilizados anaeróbicamente por las bacterias produciéndose gas (59).

5. Estudios in vitro: proteína digerible e indigerible

La proteína no digerible representa un 19, 28 y 30% de la proteína total de los f. blancos, negros y rojos, y si se resta a la proteína total se tendría un 81, 72 y 70% de proteína digerible, que es parecida a las digestibilidades verdaderas de las proteínas de f. blanco (84.4%), negro (78.7%) y rojo (78.2%). Estos valores serán un poco menores al utilizar el valor de nitrógeno fecal endógeno de Huang (61).

El método utilizado para estimar el contenido de fibra indigerible se asemeja a un método de digestibilidad in vitro, por lo que podría ser utilizado para dicho fin, ya que se encontró una concordancia tan alta entre el método in vivo que mide en forma dinámica la disponibilidad de la proteína. Se recomienda analizar más muestras de frijol por proteína indigerible antes de utilizar este método in vitro en forma rutinaria.

La proteína indigerible cuantificada en el residuo de fibra insoluble debe provenir de diversas fuentes: como resultado de la interacción que ocurre entre proteínas (19,89) y fracciones proteínicas de baja digestibilidad, como son las globulinas (100,123), las cuales son solubles en NaOH (98).

Al correlacionar el nitrógeno soluble en álcali excretado y la proteína indigerible excretada en heces, se encontró una correlación baja, pero positiva (0.34 y 0.36) para f. negros y rojos. En frijoles blancos, la correlación entre ambas variables fue mayor que en los f. coloreados, pero ésta fue inversa

($r=-0.66$). Posiblemente los polifenoles son los que están determinando este tipo de respuesta, ya que los f. coloreados poseen cantidades de taninos mucho mayores que los f. blancos, los cuales supuestamente se unen a la proteína durante la cocción haciéndola indigerible.

La fracción globulínica E, descrita por Seidl y Jaffé(123), con propiedades inhibitorias de proteasa y termoresistente, debe estar incluida dentro de la proteína indigerible cuantificada.

Algunos autores (121) incluyen a la proteína indigerible en el concepto de fibra dietética total. Si se hubiese interpretado de este modo la fibra dietética total, el contenido en f. negros, rojos y blancos sería 34.9, 33.8 y 32.9, respectivamente.

La proteína digerible cuantificada in vitro es sólo una parte (19-30%) de la proteína digerible total in vivo, porque parte de ésta no es retenida en el residuo soluble predipitado, eliminándose en el sobrenadante alcohólico; por lo tanto, los resultados de la proteína digerible in vivo sirven únicamente para corregir la fibra dietética soluble estimada.

La ecuación de regresión que permite predecir la digestibilidad aparente a partir del contenido de proteína indigerible del frijol cocido se muestra en la Gráfica 6; al asumir una ingesta de cero de la proteína indigerible, se obtiene que esta proteína es la responsable de un 30.2% de la disminución de la digestibilidad de la proteína del frijol. En ratas se ha obtenido una ecuación de regresión que permite predecir la digestibilidad de la proteína del frijol a partir del residuo indigerible in vitro la cual indica que una ausencia de residuo indigerible da una digestibilidad de 92.1%.

6. Digestibilidad del nitrógeno total

La digestibilidad aparente de la proteína del f. blanco (57.6%) fue mayor que la del f. negro (51.0%) y el f. rojo (50.2%), posiblemente debido al menor contenido de taninos, inhibidores de tripsina, proteína indigerible y fibra insoluble en los f. blancos. Estudios de digestibilidad de la proteína del frijol en humanos informan valores similares (60,96). De acuerdo a Navarrete (96) y Bressani (22) se esperaría una mayor digestibilidad de la proteína de los frijoles evaluados si la ingesta de proteína fuera mayor.

Los resultados de digestibilidad en ratas son más altos que los obtenidos en humanos, oscilando entre 67.4 y 74.9% en f. negros, 62 a 74% en rojos y 71.7 a 78.5% en f. blancos. Ellis y col (36) notifican de una digestibilidad aparente de la proteína del f. negro var Tamasulapa de 68.2 y 69.0%, cuando se utiliza un nivel proteínico de 10 y 8%, respectivamente, y ratas Wistar de 28-35 días de edad; sin embargo, en ratas de 59 días (adultas) estos valores disminuyeron a 65.0 y 64.6%, para un nivel de 8 y 10% de proteína. Los valores resultan mayores a los obtenidos en humanos (51.0%), bajo condiciones de cocción y procesamiento similares. Las muestras de f. blanco y rojo aun no han sido evaluadas en ratas, pero con toda seguridad las digestibilidades serán mayores que las obtenidas en humanos. La diferencia entre los valores de digestibilidad obtenido en humanos y en ratas, señala que las evaluaciones efectuadas en humanos son de mayor peso para seleccionar variedades de frijol de mejor digestibilidad para consumo humano.

Al corregir las digestibilidades de la proteína del frijol por el nitrógeno fecal endógeno (31.3 ± 2.7 mg/kg/d), se obtienen digestibilidades más altas: 78.7, 78.2 y 84.4%, para f. negros, rojos y blancos, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas ($p/0.05$) en digestibilidades verdaderas entre las 3 variedades evaluadas, aun cuando se usa una

probabilidad del 10%; posiblemente debido a la variabilidad en el nitrógeno endógeno individual.

Si se utilizara el valor de nitrógeno endógeno obtenido por Huang (61) en individuos procedentes de poblaciones no desarrolladas, 13.1 ± 2.5 mg/kg/d, para calcular la digestibilidad verdadera, el incremento de las digestibilidades no sería tan alto en comparación al obtenido. En f. blancos, negros y rojos la D.V. de la proteína sobreestiman su calidad debido al nitrógeno fecal endógeno alto utilizado, este valor es el resultado del período bajo en nitrógeno del método corto de balance nitrogenado en que según Scrimshaw (12) no se ha estabilizado la excreción fecal endógena.

El nitrógeno endógeno excretado durante la DBN fue de 31.4 ± 2.7 mg/kg/d, que es ligeramente más alto al informado por Hernández (25-27 mg.kg.d) (60) y Navarrete (20.9 mg/kg/d) (96). Las diferencias en excreción fecal endógena aparentemente se deben a la ingesta de nitrógeno durante la DBN (61), siendo ésta de 23.22 ± 2.43 mg/kg/d en el presente estudio, y 13.92 mg/kg/d en el de Hernández (60), 20.9 mgN/kg/d en el de Navarrete (96) y 24.7 ± 4.9 mgN/kg/d en el de Gutiérrez (56). En el mismo estudio (96) se realizó un segundo período con la DBN obteniéndose un valor semejante (30.0 ± 2.4 mg/kg/d) de nitrógeno fecal endógeno al obtenido en este experimento; sin embargo, la ingestión de nitrógeno fue ligeramente mayor (26.8 ± 0.2 mg/kg/d). En otros estudios (61,122) en que el tiempo de balance fue mayor al utilizado se observó excreciones fecales endógenas ($9. \pm 2$ y 13.1 ± 2.5 mgN/kg/d) menores a la presente, debido a que las pérdidas de nitrógeno después de los dos días se hacen constantes durante los restantes 14 días de la evaluación y son muchísimo menores al excretado durante los dos primeros días de la DBN (122), y al hecho que difiere la dieta basal con respecto a la ofrecida en los estudios de balance del INCAP. El contenido, en

mg/kg/d, de nitrógeno en las dietas basales de los estudios de Scrimshaw (122) y de Huang (61) fueron 6.7 y 10, respectivamente.

Las diferencias entre los valores de nitrógeno fecal endógeno informados (56,60,61,96,122) incitan a prestarle mayor atención a la composición de la DBN, sustituyéndose cuando sea posible las frutas por celulosa y pectinas que aunque no sean tan agradables al paladar contienen una menor cantidad de nitrógeno y aportarán la fibra necesaria para una digestión adecuada. Sin embargo, existe la posibilidad de ofrecer fruta como fuente de fibra siempre y cuando, se ofrezca esta misma fruta durante el período de la proteína bajo estudio; no sería comparable discutir valores de nitrógeno endógeno utilizando DBN de composición diferente. Además, pareciera de importancia el diseño experimental usado para poder comparar excreciones endógenas entre estudios.

7. Balance de nitrógeno

Cuando la ingesta de nitrógeno de frijol es de 0.65g de proteína/kg/d todos los individuos están en balance negativo a excepción de dos sujetos en la dieta de f. blanco y uno en la de f. negro. Estos resultados, el del nitrógeno requerido para mantenimiento nitrogenado, 143.3, 151.4 y 163.9 mgN/kg/d para f. blancos, negros y rojos y el contenido de los A.A. limitantes señalan que la proteína del f. blanco es de mejor calidad que la del f. negro, y estas dos mejores que la del rojo. Con una ingesta diaria de proteína de f. blanco de 0.9/kg un individuo deberá encontrarse en balance nitrogenado; mientras que requerirá 0.95 g/kg/d de f. negro y 1.0 g/kg/d de f. rojo para estar en balance nitrogenado; estas diferencias no resultaron ser estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Es posible que la falta de significancia de deba en parte al bajo número de individuos y variedades, que es una de las limitantes en evaluaciones en humanos.

La calidad de la proteína de las 3 variedades de frijol consumido también puede describirse por el NBI (índice de balance nitrogenado) que es 0.47, 0.43 y 0.40 para f. blanco, negro y rojo, respectivamente, tal como se aprecia en las ecuaciones de regresión entre NI y BN de la Gráfica 1.

En un estudio (96) en que el nivel de proteína ingerida de f. negro fue 0.6 g/kg/d todos los individuos se encontraron en balance negativo, pero al mejorar la calidad de la proteína/ por complementación con maíz todos se hallaron en balance positivo, aun cuando el nivel de ingesta proteínica diaria fuera la misma.

Los estudios de balance nitrogenado en que la proteína proviene del frijol (60,96) indican que se necesitan diferentes ingestas diarias de proteína según el color de la cáscara del frijol, y aun de un mismo color, para estar en balance nitrogenado, y en todos los casos esta ingesta de proteína del frijol debe ser mayor de 0.65 g/kg/d. Sin embargo, este requerimiento no puede ser llenado porque aunque los individuos se comieran tal cantidad de frijoles, no la soportarían fisiológicamente.

El coeficiente de variación de los resultados de BN en cada color de frijol fue alto: 105.5% (negro), 51.5% (rojo) y 125.2% (blanco), lo cual señala que los sujetos responden muy diferente a cada dieta, tal como lo confirma el análisis de varianza en que se encontró diferencias significativas ($p/0.05$) entre sujetos. Se encontró un efecto significativo ($p/0.05$) del tiempo sobre los resultados de balance, posiblemente debido a cambios en temperatura ambiental (61), stress y otros factores incontrolables.

8. Utilización proteica neta (NPU)

El NPU es otra medida biológica que permite establecer la calidad de una proteína. Se encontró diferencia, aunque no estadísticamente significativa ($p/0.05$), entre las variedades de frijol estudiadas. Al igual que en el BN la calidad de la proteína de f. blanco ($37.2 \pm 14.5\%$) es mejor que la del negro ($35.0 \pm 18.1\%$) y la del f. rojo ($31.6 \pm 14.0\%$).

Los valores de NPU obtenidos en este estudio son ligeramente mayores a los informados por Hernández (60), posiblemente debido a la mayor ingesta de proteína (0.65 vs 0.60 g/kg/d), lo que favorecerá la digestibilidad de la proteína (96) y, por lo tanto, se absorberá una mayor cantidad de A.A. que se refleja en una utilización de nitrógeno mayor, o posiblemente debido a una sobreestimación del NPU al haber un mayor nitrógeno endógeno.

En el cálculo del NPU se utilizan los datos de balance durante la DBN, el nitrógeno fecal endógeno discutido anteriormente y el nitrógeno urinario metabólico. La excreción urinaria metabólica de nitrógeno fue 47.8 ± 8.7 mg/kg/d; Scrimshaw (122) y Huang (61), informan valores mucho menores, 37.2 ± 4.8 (122) y 33.4 ± 4.2 mg/kg/d (61). Estas diferencias pueden deberse a diferencia en el número de días que utilizan en este período (5 vs 14 días) y a la composición de la dieta utilizada.

Scrimshaw(122) demostró en 83 individuos que ingirieron una DBN que la excreción de nitrógeno urinario logra un nivel estable entre los 3 y los 8 días, por lo que recomienda efectuar el balance después de los 10 días, en la dieta; sin embargo, el presente estudio de balance se hizo por el método de corto tiempo, que es comparable el ensayo convencional (24), si se siguen las recomendaciones básicas para realizarlo. Entre ellas la que no se cumplió fue la de la DBN que debe proporcionar 10-

15 mg/kg/d y la ofrecida fue de 20.8 a 25.6 mg/kg/d. Contrariamente se ha notificado (56,60) excreciones urinarias metabólicas de 45-50 (60) y 54.3 ± 5.7 mg/kg/d (56) en que las ingestas de nitrógeno durante la DBN fueron menores, lo que sugiere que ésta no es la única causa en las discrepancias en las excreciones obligatorias endógenas.

9. Valor biológico

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre las cifras de valor biológico en las 3 dietas de frijol. Pero, al ajustar el promedio por diferencias entre sujetos, efecto por tiempo y efecto residual se aprecia que un 71.3% del nitrógeno del f. rojo que es absorbido es retenido, mientras que del f. negro y blanco, se retiene sólo un 68.4 y 67.9%. Lo anterior pareciera indicar un mejor balance de A.A. en lo absorbido en f. rojo, cosa que no concuerda con los datos de composición aminoacídica de los frijoles; podrían haber otros factores que estén impidiendo una mejor absorción de los A.A. de los frijoles negros y blancos. Hernández (60) encontró un mayor valor biológico en f. rojo, en comparación al negro y al blanco.

10. Digestibilidad del nitrógeno soluble en NaOH

El mayor contenido de nitrógeno soluble en álcali en las heces fecales de los individuos alimentados con la DBN y la de frijol concuerda con los resultados obtenidos al correlacionar el nitrógeno soluble excretado con la D.A. y D.V. ($r > 0.65$) y la digestibilidad del nitrógeno soluble en las dietas de frijol que fue muy baja: $9.4 \pm 13.1\%$, $6.0 \pm 9.1\%$ y $11.3 \pm 10.3\%$ para f. negros, rojos y blancos, respectivamente. Los mayores valores de digestibilidades verdaderas, $60.6 \pm 23.2\%$, 59.2 ± 16.0 y $66.7 \pm 11.8\%$ en f. negro, rojo y blanco en comparación a los de la aparente se pueden deber en parte a que la mayor

parte del nitrógeno fecal endógeno es soluble en álcali. Pareciera más conveniente tomar la digestibilidad verdadera de la proteína soluble que la aparente.

Ya ha sido notificado (22,60,98,117) que la digestibilidad de la proteína soluble en NaOH es baja. Hernández (60) encontró una D.A. de nitrógeno soluble en álcali de f. negro negativa ($-9.4 \pm 8.0\%$) y en el f. rojo de $15.4 \pm 10.0\%$; mientras Bressani (22) halló digestibilidades de nitrógeno soluble en agua mucho mayores, $36.4 \pm 10.2\%$, 41.2 ± 7.9 y $14.2 \pm 5.6\%$ para f. negro, blanco y rojo, respectivamente. Rosales (117) extrajo las fracciones proteínicas en f. negro por solubilidad diferencial; luego adicionó estas fracciones a dietas consumidas por niños, y halló que la dieta a base de leche y fracción soluble en NaOH fue la que tuvo menor absorción y su retención fue negativa. De toda esta información respecto a la digestibilidad del nitrógeno soluble parece lógico suponer que esta fracción proteínica sea la causante de la menor digestibilidad de la proteína del frijol.

Posiblemente la fracción soluble en álcali proveniente de frijol cocido sean las globulinas, ya que el calentamiento disminuye la digestibilidad de la fracción albúmina (89) (que es la otra posible fracción a solubilizarse en álcali), y por lo tanto pierde sus propiedades de solubilidad. Otra información que apoya esta suposición es el hecho que las globulinas G_1 y G_2 son deficientes en A.A.S., siendo las glutelinas y las albúminas mejores fuentes de estos A.A.S. (89) y que la fracción soluble tiene un VB claramente insatisfactorio, además de su pobre absorción (117). Tanto Hernández (60), como Rosales (117) concluyen que aunque el NaOH no fracciona específicamente las proteínas del frijol (98), las globulinas son extraídas en mayor parte y éstas tienen una baja digestibilidad.

Las ecuaciones de regresión entre el nitrógeno fecal y nitrógeno fecal total, señalan que se excreta mayor cantidad de nitrógeno soluble en NaOH al ingerir la variedad de color blanco, que la negra y la roja, ya que en proporción se ingirió más nitrógeno soluble, aunque de mayor digestibilidad.

Si el nitrógeno soluble en álcali fuera el único causante de la baja digestibilidad en los frijoles, sería de esperar que la digestibilidad de la proteína total del f. blanco fuera menor que la del negro y el rojo, o bastante parecida, ya que posee un mayor contenido de nitrógeno soluble, aunque más digerible. Posiblemente, el nitrógeno soluble en NaOH, es el principal responsable de la digestibilidad de la proteína del frijol (aunque no ha sido cuantificada); y las diferencias en digestibilidad por variedad de frijol son debidas a otros factores, tales como inhibidores de tripsina, taninos, proteína indigerible (incluye la mayor parte del nitrógeno soluble) y en menor grado la fibra insoluble.

11. Digestibilidad de la fibra dietética total

La digestibilidad aparente de la fibra dietética total varió entre 47.2 y 56.2%, y la verdadera entre 80.7 y 87.2%, por lo que pareciera que la fracción de fibra dietética total es en gran parte digerible. Es lógico que la fracción de fibra dietética total resultó ser más disponible al organismo (81.5-83.2% D.A.) que la fracción de fibra insoluble (41.5-45.7% D.A.) ya que en el método se utilizan enzimas digestivas semejantes a las que poseemos.

La corrección por proteína indigerible en la fracción in soluble permitió obtener altas digestibilidades de la fibra ya que se sigue la deficiencia química de fibra dietética (carbohidratos sin incluir almidón y celulosa).

El contenido de fibra dietética insoluble en el frijol se correlaciona negativamente con la digestibilidad de la proteína (Gráfica 6), por lo que este factor contribuye a la disminución de la digestibilidad proteínica del frijol, tal como se ha señalado con anterioridad (20,112,117), ya sea por impedimento de tipo físico para las enzimas que actúan sobre la proteína (51,112), o por la rápida velocidad de paso de los frijoles a través del tracto digestivo (20).

En vista que la dieta basal aporta una importante cantidad de fibra (8.5-12.3 g%BS) pareciera más conveniente utilizar los resultados de digestibilidad verdadera de la fibra total, que la digestibilidad aparente, para evaluar el frijol, aunque el contenido de fibra en la dieta basal del período bajo en nitrógeno fue un poco más alto (3.8 g%BS) que el de la dieta basal en el período bajo estudio.

12. Contenido de aminoácidos y su disponibilidad

Según el puntaje químico Res A.A. limitantes en los frijoles estudiados son 1, A.A.S.; 2, triptofano; 3, valina y 4, treonina (en f. rojo y en negro, únicamente), al comparar la composición aminoacídica con el patrón FAO/OMS (72).

Al analizar las muestras de frijoles cocidos por su contenido de A.A. se observa que el f. blanco es el que aporta una mayor cantidad de los A.A. limitantes de la proteína del frijol, y que la treonina no resultó ser limitante en la proteína del f. blanco, ya que su contenido resultó ser mayor que el del patrón FAO/OMS (72).

En f. rojo es el que tiene una mayor cantidad de lisina total de los 3 colores de frijol, A.A. de gran importancia en la complementación proteínica en las dietas centroamericanas. La lisina total de los 3 colores de frijol resultó mayor que

la del patrón FAO/OMS (72).

El hecho que no se cuantifique cistina y metionina, confirma que la hidrólisis ácida con HCl no es adecuada para cuantificar A.A.S., siendo éste el principal "punto débil" en los datos de composición de A.A. de los frijoles, ya que incluye al primer A.A. limitante de las leguminosas. Por la anterior razón se hizo dos tipos de cálculos de digestibilidad individual de cada A.A. : en un caso se incluyo la metionina, y en otro no.

La disponibilidad de cada A.A. proveniente del frijol es bastante semejante a la de la proteína total en las 3 variedades de frijol, excepto en los A.A.S., la valina y el triptofano. La baja disponibilidad de los A.A.S. puede deberse a que no se pudieron cuantificar en parte o totalmente en las dietas de frijol, y a la relativa alta excreción de metionina endógena proveniente de enzimas digestivas raras en A.A.S.

La menor digestibilidad aparente de los A.A. valina (25.6-32.6%) y triptofano (29.0-36.0%) pueden deberse al antagonismo entre A.A., pues hay un exceso de leucina e isoleucina con respecto a la valina; y en el caso del triptofano se observa que mucho del A.A. excretado a través de las heces es endógeno, ya que los valores de digestibilidad verdadera de este A.A. (70.9-81.8%) son bastante parecidos a los de la proteína total (78.2-84.4%).

La exclusión de la metionina en la obtención de la disponibilidad promedio de los A.A., eleva los valores de digestibilidad aparente de la proteína con la de los A.A. Si se comparan las digestibilidades corregidas por el A.A. endógeno excretado, ocurre un incremento en la digestibilidad verdadera, porque se excreta una importante cantidad de metionina endógena, tal como se analiza en la literatura (80).

La fritura del frijol no afectó la disponibilidad de lisina, pues su recuperación en las muestras fritas fue mayor del 96%. Por lo tanto, el análisis aminoácidico realizado en que los "pools" de frijol cocido sin freír no son mayores de lo que en realidad debieran ser, en el caso que hubiera ocurrido daño de la proteína.

13. Correlaciones entre métodos biológicos

La correlación lineal entre las medidas de digestibilidad (aparente y verdadera) y las de balance (BN, NPU y VB), positiva (+0.49 - +0.87), y negativa (-0.31 a -0.58) y ausencia de ésta (-0.1- +0.1), en f. negres, blancos y rojos, respectivamente, sugiere que la metionina disponible es el factor limitante en la retención de nitrógeno cuando se incrementa la digestibilidad de la proteína del frijol.

El aumento en la D.A de la proteína del f. negro hasta 65% conlleva a un BN de +6.05 mg/kg/d, que se puede alcanzar con la proteína de este frijol. Si se incrementara su digestibilidad por arriba del 65% el BN disminuiría, como es el caso del f. blanco, que a pesar de ser más digerible que los coloreados se correlaciona inversamente con la retención de nitrógeno. Al evaluar los frijoles en forma conjunta, D.A vs BN, se encontró un comportamiento similar al del f. negro ($r=+0.88$), aunque el grado de asociación entre las variables es menor ($r=+0.26$), ya que se incluye los f. rojos y blancos que supuestamente no disponen de más metionina disponible.

La anterior información hace pensar que un aumento en la digestibilidad de la proteína del frijol no garantiza un mayor valor nutritivo, debido al imbalance de A.A. absorbido. Por el contrario, un mayor contenido de metionina, aún con la misma baja digestibilidad, daría un valor proteínico superior.

En vista que la finalidad práctica de la presente tesis es proporcionar información que permita seleccionar variedades con mayor potencial nutricional para poblaciones subdesarrolladas, y que el tema de la tesis es la importancia de los factores sobre la digestibilidad de las proteínas del frijol y de sus aminoácidos en humanos adultos, se sugiere la selección de variedades de frijoles más digeribles, siempre y cuando ésta vaya acompañada de un mejor patrón de aminoácidos esenciales. En todo caso, estos hallazgos sugieren la necesidad de estudiar estos aspectos con más profundidad.

VII. SUMARIO

El propósito del presente estudio fue obtener mayor información sobre la digestibilidad de los frijoles y de sus A.A. y los factores que la afectan. Para ello se utilizó 12 individuos adultos sanos que ingirieron 0.65 g/kg/día de proteína de frijol (P. vulgaris) negro, rojo y blanco. Se proporcionó una dieta baja en nitrógeno y las dietas estudiadas fueron isocalóricas. Los análisis químicos realizados fueron: proteína cruda, nitrógeno soluble en NaOH 0.02N, inhibidores de tripsina, hemaglutininas, taninos, fibra dietética total y sus fracciones soluble e insoluble, proteína digerible e indigerible in vitro y análisis de aminoácidos. Con dichos resultados se calculó la digestibilidad de la proteína total, del nitrógeno soluble en álcali, fibra dietética y de cada aminoácido; también, se calcularon las medidas de balance. Estadísticamente, se calculó ecuaciones lineales y cuadráticas entre variables, análisis de Scheffé y se obtuvo ecuaciones predictoras de la digestibilidad aparente a partir de los factores químicos. Los puntos de mayor importancia son:

- a) Se ha confirmado la baja digestibilidad del frijol.
- b) Se ha demostrado estadísticamente que las catequinas, inhibidores de tripsina y proteína indigerible tienen un efecto reductor de la digestibilidad proteica. Para dichos análisis químicos se obtuvo una ecuación predictora de la digestibilidad aparente, la cual posee un ajuste satisfactorio de los datos originales.
- c) También se ha encontrado que el ácido tánico, nitrógeno soluble en NaOH 0.02N y fibra indigerible afectan negativamente la digestibilidad; sin embargo, el análisis estadístico no resultó significativo, por lo que no se pudo obtener una ecuación predictora.

d) Una ausencia de catequinas en los frijoles mejora la digestibilidad de la proteína en un 48%; si no hay inhibidores de tripsina se eleva en un 24%. La proteína indigerible resultó ser la responsable de un 30.2% de la disminución de la digestibilidad de la proteína del frijol.

e) Las ecuaciones de regresión lineal entre las ingestas de compuestos químicos y la digestibilidad aparente de la proteína, aunque no estadísticamente significativas, permitieron estimar el incremento en digestibilidad cuando no se ingiere nada de alguno de ellos. Se encontró que los taninos, inhibidores de tripsina residuales, proteína indigerible, nitrógeno soluble en álcali y fibra indigerible son responsables de un 13.9, 19.4, 18.7, 16.6 y 17.0%, respectivamente, de la disminución de la disponibilidad proteica. Los últimos dos datos fueron obtenidos en frijoles rojos y blancos, mientras que los demás se obtuvieron en las 3 variedades de frijol.

f) La cocción del frijol redujo la solubilidad del nitrógeno en NaOH en un 64-69%, el cual resultó ser poco digerible, representando un 59-67% del nitrógeno fecal excretado.

g) El puntaje aminoácidico permitió confirmar que el primer A.A. limitante de los frijoles son los A.A.S. y el segundo el triptofano. Además, la valina resultó ser el tercer A.A. limitante y el cuarto la treonina; éste último únicamente en frijoles negros y rojos.

Debe insistirse en que el método de hidrólisis ácida, con HCl, destruye en gran parte los A.A.S. por lo que los resultados obtenidos subestiman la calidad proteica de la proteína de los frijoles. Se recomienda cuantificarlos por métodos microbiológicos o con hidrólisis con ácido per fórmico.

h) El análisis aminoácido de la proteína del frijol permitió demostrar que son ricas fuentes de lisina, la cual resultó altamente disponible aunque se fríe el frijol cocido.

i) La disponibilidad promedio de los A.A. resultó semejante a la de la proteína, sobre todo cuando se excluye a la metionina en el cálculo de las medias.

j) La calidad proteínica, evaluada por métodos de balance y por el puntaje químico, permite señalar que el frijol blanco resultó ser el que ofrece una mayor retención de nitrógeno al ingerir una misma cantidad de proteína, le sigue el frijol negro y por último el rojo.

k) Un aumento en la digestibilidad de la proteína del frijol no garantiza un mayor valor nutritivo, por lo que variedades con mayor disponibilidad proteínica deberían ir acompañadas de un mejor balance de aminoácidos esenciales.

l) El diseño experimental en cuadrados latinos permitió ajustar las medidas biológicas obtenidas por efecto de sujetos, efecto residual y de tiempo. Se encontró que es importante realizar el ajuste de los datos, ya que las diferencias entre sujetos tiene un efecto significativo sobre los resultados de balance; por lo que se recomienda estandarizar el diseño experimental para estudios de balance en humanos. Se confirmó que dos días de adaptación son suficientes para que no haya efecto residual entre dietas.

m) Es muy probable que 2 ó 3 factores químicos que hemos estudiado independientemente son la misma cosa, por ejemplo: taninos e inhibidores de tripsina residuales, y la proteína indigerible y nitrógeno soluble en NaOH.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Andrews, A.T. y D.J. Jayne-Williams. The identification of a phytohaemagglutinin in raw navy beans (*P. vulgaris*) toxic for Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Bri. J. of Med. 32(1):181-188. 1974.
2. Anónimo. Unusual outbreak of food poisoning. British Medical J. 2(6046): 1268. 1979.
3. Antunes, P.L. Composition and nutritional properties of the proteins of the Rosinha G-2 bean (*P. vulgaris*). Tesis: Facultad de Engenharia de Alimentos Agrícola, Universidad Estadual de Campinas, 166p. (original no consultado, compendiado en Fd. Sc. and Tech., 13(12). 1981).
4. _____ y V.C. Sgarbiere. Effect of heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry bean (*P. vulgaris*, var. Rosinha F-2) proteins. J. of Agric. and Fd. Chem. 28(5):935-938. 1980.
5. Arora, S.K. y Y.P. Luthra. The in vitro digestibility of promising Indian varieties of sorghum and its relation with tannin content. Indian J. of Nutr. and Diet 11(4):233-236. 1980.
6. Asp, N.G., C.G. Johansson, H. Hallmer y M. Siljeström. A rapid enzymatic method for assay of insoluble and soluble dietary fiber. J. Agric. Fd. Chem. 1982, In press.
7. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., Official Methods of Analysis of the A.O.A.C. Washington, D.C. 1970, p.532.
8. Aykroyd, W.K. y Doughty, J. Legumes in human nutrition, FAO Nutrition Studies. Rome, N 19:38, 1964 (original no consultado).
9. Banco de Guatemala. Estudio sobre el frijol. En: Informe Económico XXIV, Oct-dic, p.31-63, 1977.
10. Barker, R.D., E. Debyshire, A. Yarwood y D. Boulter. Purification and characterization of the major storage proteins of *P. vulgaris* seeds, and their intracellular and cotyledonary distribution. Phytochemistry 15(5):751-757. 1976.

11. Barnes, R.H., E. Kwong y G. Fiala. Effect of penicillin added to an unheated soybean diet on cystine excretion in feces of rats. J. Nutr. 85:123. 1965.
12. _____ y E. Kwong. Efecto of soybean trypsin inhibitor and penicillin on cystine biosynthesis in the pancreas and its transport as exocrine protein secretion in the intestinal tract of the rat. J. Nutr. 86:245. 1965.
13. Bender, A.E. Low digestibility of legume nitrogen. Información personal.
14. Birck, Y. Chemistry and nutritional significance of proteinase inhibitors from plant sources. Ann. N.Y. Acad. Sci. 146:38. 1968. (original no consultado, tomado de J. Nutr. 99:34. 1969).
15. Boulton, D. Structure and biosynthesis of legume storage proteins. En: Seed protein improvement in cereal and grain legumes, vol 1 p. 125-136. 1979.
16. Bressani, R. y L. Elías. Improvement of the nutritional quality of food legumes. Food and Nutrition Bulletin: 1(4): 23-34, 1979.
17. _____ y L.G. Legume foods. En: New protein foods. A. Ahschul (ed), N.Y., Academic Press, p. 230-297. 1974.
18. _____ y L.G. Elías. Nutritional value of legume crops for humans and animals. En: Advances in Legume Science, Summerfield, R.J. y Bunting, A.H. (eds), HMSO, p. 135-155. 1980.
19. _____ y L.G. The nutritional role of polyphenolics in beans. En: Proceedings of a symposium held during the 30th annual meeting of the Institute of Food Technologists, St. Louis, Missouri, 10-13 June, 1979.
20. _____ y L.G. The problem of legume protein digestibility. En: Nutritional Standards of methods of evaluation for food legume breeders. (Prepared by the International Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders). Ed. L.W. Billingsley, International Development Research Centre (IDRC), Ottawa, Canada, 1977. p.61-72.
21. _____ y L.G. Vegetable protein foods for developing areas. Adv. Fd. Res. 16:1-103. 1968.
22. _____; L.G. Elías y M. Molina. Estudio sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. Arch. Latinoamer. de Nutr. 27(2):215-231. 1977.

23. _____; L.G. Elías y J.E. Braham. Reduction of digestibility of legume proteins by tannins. J. of Plant Foods. 4:43-55. 1982
24. _____; D.A. Naverrete, L.G. Elías y J.E. Braham. A critical summary of a short term nitrogen balance index to measure protein quality in adult human subjects. En: Soy protein and human nutrition. H.L. Wilck, D.A. Hopkins y D.H. Waggle (eds), N.Y., Academic Press, 1979, p.313-323.
25. Burns, R.E. Method of tannin analysis for forage crop evaluation. Georgia Agric. Exp. Stat. Tech. Bul. 32: 14. 1963.
26. Carpenter, K.J. The nutritional contribution of dry beans (P. vulgaris) in perspective. Fd. Tech. 35(3): 77-78. 1981.
27. Conkerton, E.J. y V.L. Frampton. Reaction of gossypol with free -amino groups of lysine in proteins. Arch. of Bioch. & Biophysics, 81: 130-134. 1959.
28. Danielsen, C.E., Svensk, Kem. Tid 64:43. 1952. (original no consultado, tomado de Phytochemistry 15(1):3-24. 1976).
29. De España, M.E.F. Estudio sobre las posibles relaciones entre parámetros físicos, químicos y nutricionales en P. vulgaris. B.S. Tesis, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala, 1977.
30. de Muelenaere, M.J.H. Studies on the digestion of soybean. J. Nutr. 82:197. 1964.
31. Debyshire, E. y D. Boulter. Isolation of legumine-like protein from P. aureus and P. vulgaris. Phytochemistry, 15(3): 411-414. 1976.
32. _____; D.J. Wright y D. Boulter. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. Phytochemistry 15 (1):3-24. 1976.
33. Deshamps, I. Pea beans. En: Processed plant protein food stuffs. Altschul (ed), N.Y., Academic Press, cap. 26, p725. 1958.
34. El-Hag, N.A. The effect of germination on the nutritive value of red kidney beans. Dissertation Abstracts International, B 37(10): 4966-4967, Order No. 77-7216, 101p., 1977.

35. _____ y R.E. Morse. Influence of sprouting on the digestibility coefficient, trypsin inhibitor and globulin proteins of red kidney beans. J. of Fd. Sc. 43(6):1874-1875. 1978.
36. Elías, L.G. Información personal.
37. _____; R. Bressani y M. Flores. Problems and potentials in storage and processing of food legumes in Latin America. Cali, Colombia, Feb. 26 a marzo 10, 1973. Cali Colombia, Centro Internacional de Agricultura, CIAT. p.52-87. 1973.
38. _____; Dolores de Fernández y R. Bressani. Possible effects of seed-coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. J. Fd. Sc. 44(2): 524-527. 1979.
39. El Nahry, F., N.M. Darwish y S. Tharwat. Effect of preparation and cooking on the nutritive value of local kidney bean. (*P. vulgaris* var. Giza 3). Qualitas Plantarum-Plant foods for human nutrition, 27(2): 141-150. 1977.
40. Evans, R.J. y D.H. Bauer. Studies of the poor utilization by the rat of methionine and cystine in heated dry bean seed (*P. vulgaris*). J. of Agric. and Fd. Chem. 26(4):779. 1978.
41. _____ y H. Kerr. Protein isolation, extraction and precipitation of nitrogenous constituents constituents of dry navy beans. J. Agri. Fd. Chem. 11: 26-29. 1963.
42. Featherston, W. y L. Rogles. Influence of tannins on the utilization of sorghum grain by rats and chicks. Nutr. Rep. Intern. 11(6): 491-497. 1975.
43. Fernández, R., L.G. Elías, J.E. Braham y R. Bressani. Trypsin inhibition and haemagglutinins in beans (*P. vulgaris*) and their relationship with the content of tannins and associated polyphenolics. J. of Agric. and Fd. Chem. 30: 734-739. 1982.
44. Frangne, R. y J. Adrian. The Maillard reaction. VI Reactivity of various purified proteins. Annales de la Nutrition et de l' Alimentation, 24(4):97-106. 1972 (original no consultado, compendiado de Fd. Sc. and Tech. Abs. #1, 1973).
45. Fukuda Susuki, G. Significado de algunos indicadores químicos y biológicos en la evaluación del frijol (*P. vulgaris*). Tesis de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala. 1978.

46. Glick, Z. y M. Joslyn. Effects of tannic acid and related compounds on the absorption and utilization of protein in the rat. J. Nutr. 100:516-520. 1970.
47. _____ y M. Joslyn. Food intake depression and other metabolic effects of tannic acid in the rat. J. Nutr. 100:509-515. 1970.
48. Griswold, R.M. The experimental study of foods. Houghton Mifflin Co., Boston, U.S.A., p.178-180. 1962.
49. Goldberg, A. y K. Guggenheim. Effect of antibiotics on pancreatic enzymes of rats fed soybean flour. Arch. Biochem. Biophys. 108:250. 1964.
50. Gómez-Brenes, R., L.G. Elías y R. Bressani. Mejoramiento de la calidad proteínica de dietas de bajo valor nutritivo a través del uso de maíz fortificado y del opaco-2. En: Mejoramiento Nutricional del Maíz. Memorias de una conferencia celebrada en el Instituto de Centroamérica y Panamá-INCAP. Bressani, R., J.E. Braham y M. Béhar (eds). Guatemala, p.261-277. 1972.
51. González de Fernández, D. Estudio sobre las posibles relaciones entre los pigmentos presentes en la cáscara de frijol y el valor nutritivo de este. Tesis, Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala, 41p, 1975.
52. Griffiths, D.W. The inhibition of digestive enzymes by extracts of field bean (*Vicia faba*). J. of the Sc. of Agric., 30(5):458-462. 1979.
53. _____ y D.I.H. Jones. Cellular inhibition by tannins in the testa of field beans (*Vicia faba*). J. of the Sc. of Fd. and Agric., 28(11):983-989. 1977.
54. _____ y D.H.I. Jones. Variation in the tannin, phytates and protease inhibitor activity of field beans (*Vicia faba*). En: Protein quality from leguminous crops. Kirchberg, Luxembourg, Commission of the European Communities, p. 105-115. 1977. (original no consultado, compendiado del Nutrition Abs. and Rev., 48(11). 1978).
55. _____ y G. Moseley. The effect of diets containing field beans of high or low polyphenolic content on the acidity of digestive enzymes in the intestines of rats. J. of the Sc. of Fd. and Agric., 31(3):255-259. 1980.
56. Gutiérrez, O. Determinación de la cantidad de frijol necesaria para llenar los requerimientos proteicos cuando se usa plátano como fuente energética. Tesis de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala, 1980. 55p.

57. Hagerman, A.E. y L.G. Butler. Tannin-protein interactions: mechanism and nutritional significance. Federation Proceedings. 39(3,1): 443. 1980.
58. Hellendorn, E.W. Carbohydrate digestibility and flatulence activity of bean. En: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods. Proceedings of a meeting held at Ribeirao Preto, S.P. Brazil, nov. 6-9, 1973. Jaffé, W.G. (ed.) p.261-271.
59. _____. Intestinal effects following ingestion of beans. Fd. Tech., 23:87. 1969.
60. Hernández, E. Significado de la presencia de taninos y polifenoles asociados en la digestibilidad de las proteínas del frijol (*P. vulgaris*) en humanos. Tesis de Post grado en Ciencias y Tecnología de Alimentos, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala, 1980. 66p.
61. Huang, P.C., H.E. Chong y W.M. Rand. Obligatory urinary and fecal nitrogen losses in young Chinese men. J. Nutr. 102:1605-1613. 1972.
62. Hughes, P.A. y R.F. Sansted. Effect of temperature, relative humidity and light on the color of California Light Red Kidney bean seed during storage. Hort Sc. 10(4):421-423. 1975. (original no consultado, compendio de Resúmenes Analíticos sobre Frijol, vol II, CIAT, 1977).
63. Ishino, K. y D.M.L. Ortega. Fractionation characterization of major reserve proteínas from seeds of *P. vulgaris* J. of Agric. and Fd. Chem. 23(3):529-533. 1975.
64. Jaffé, W.G. Protein digestibility and trypsin inhibitor activity of legume seeds. Proc. Soc. Expt. Biol. Med., 76:210-220. 1950.
65. _____. Toxic factors in beans. Their practical importance. En: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods. p.199-209. 1975. (original no consultado, tomado de Fd. Sc. and Tech. Abs. #81, 1976).
66. _____; O. Bruncher y A. Polozzo. Inmun. Forsch. Bd. 142:439. 1972. (original no consultado, compendiado de J. of Agric. and Fd. Chem. 28(5):935-938. 1980).
67. _____ y M.E. Flores. La cocción de frijoles (*P. vulgaris*). Arch. Latinoamer. Nutr. 25(1):79-90. 1975.
68. _____; I.D. González y M.C. Mondragón. Composición de caldos de frijoles. Arch. Latinoamer. de Nutr., 26:31-41. 1976.

69. _____; R. Moreno y V. Wallis. Amylase inhibitors in legume seeds. Nutrition Reports International 7(3): 169-174. 1973. (original no consultado, tomado de Nutr. Abs. and Rev., 1974).
70. Jayne-Williams, D.J. y C.D. Burges. Further observations on the toxicity of navy beans (*P. vulgaris*) for Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). J. of App. Bacteriology, 37(1): 149-169. 1974. (original no consultado, compendiado del Nutr. Abs. and Rev. 1975).
71. Joslyn, M.A. Methods of food analysis. N.Y. Academic Press. 2nd ed., 1970, p.701-725.
72. Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee, Energy and Protein Requirements, WHO Technical Report Series, No 52 (WHO, Genova; FAO, Rome, 1973).
73. Junqueira, R.G. Purification and properties of haemagglutinin from a Brazilian variety of bean (*P. vulgaris*, L). Informativo Annual de Campinas #8, 21-24, 83p. 1980. Tesis. (original no consultado, compendiado de Fd. Sc. and Tech. Abs. 13(12) 1981).
74. Kakade, M.L., R.L. Arnold, I.E. Liener y P.E. Waibil. Unavailability of cystine from trypsin inhibitors as a factor contributing to the poor nutritive value of navy beans. J. Nutr. 99:34. 1969.
75. _____ y R.J. Evans. Growth inhibition of rats fed raw navy beans (*P. vulgaris*). J. Nutr. 90:191-198. 1966.
76. _____ y R.J. Evans. Growth inhibition of rats fed navy bean fractions. J. Agr. Fd. Chem. 13:450. 1965.
77. Kang, M.H., Y.H. Kim y S.R. Lee. Trypsin inhibitor and hemagglutinating activities of some minor beans in Korea. Korean J. of Fd. Sc. and Tech. 126(1):24-33. 1980.
78. Kirk, R. Experimental Design: Procedures for the behavioral sciences. Belmont, California, Brooks/Cole Publishing Co. 1968, p.513-517.
79. Liener, I.E. Effect of heat on plant protein, En: Processed Plant Protein Foodstuffs. A.M. Altschul (ed). N.Y. Academic Press, p.79-129. 1958.
80. _____. Legume toxins in relation to protein digestibility - a review. J. of Fd. Sc. 41(5):1076-1078. 1976.
81. _____. The nutritional significance of plant lectins. Abstracts of papers, American Chemical Society 117(1). 1979. (original no consultado, compendiado de Fd. Sc. and Tech. Abst., 1980).

82. _____ . Toxic factors in edible legumes and their elimination. Ind. J. Clin. Nutr. 11:281. 1962.
83. _____ . Toxic factors associated with legume proteins. Indian J. Nutr. Diet. ,10:303. 1973.
84. _____ y M.L. Kakade. Protease inhibitors. En: Toxic constituents of plant foodstuffs. Liener, I. E. (ed). N.Y., Academic Press. 1969.
85. Linares, S. y C. de Bosque. Evaluación de estándares nutricionales y tecnológicos de 20 variedades de P. vulgaris Tesis, Curso de Postgrado de Ciencias y Tecnología de Alimentos, CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala. 1979. 62p.
86. Lumen, B.O. y L.A. Salamat. Trypsin inhibitor activity in winged bean (Psophocarpus tetragonolobus) and the possible role of tannin. J. Agric. and Fd. Chem. 28(3): 533-536. 1980.
87. Ma, Y. Improvement of nutritive value of dry beans seeds (P. vulgaris). Ph.D. Tesis. Madison, University of Wisconsin, 105p., 1977. (original no consultado, tomado de Res. Anal. sobre Frijol vol 4, 1979).
88. _____ y F.A. Bliss. Tannin content and inheritance in common beans. Crop Sci., 18:201-214. 1978.
89. Márquez, U. y F. Lojola. Composition and digestibility of albumin, globulins and glutelins from P. vulgaris. J. Agric. Chem. 29:1068-1074. 1981.
90. Marquart, R.R., J.A. Mc Kirdy y A.T. Ward. Comparative cell wall constituent level of tannin-free and tannin-containing cultivars of faba beans (Vicia faba L.). Canad. J. of Anima. Sc. 58(4):775-781. 1978.
91. Mitjala, S., C. Lacomba y G. Carrera. Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. J. of Nutr. 107(12):2113-2121. 1977.
92. Método del analizador Technicon, con hidrólisis ácida (HCl 6N) de la muestra.
93. Molina, M.R., M.A. Baten, R.A. Gómez-Brenes, K.W. King y R. Bressani. Heat treatment: a process to control the development of the hard-to-cook phenomena. J. Fd. Sc., 41:661. 1976.
94. Molina, M.R., G. de la Fuente y R. Bressani. Interrelationship between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of the black beans (P. vulgaris). J. Fd. Sc., 40:587-591. 1975.

95. Moraes e Santos, T. y J.E. Dutra. Nutritive value of protein fractions isolated from beans (P. vulgaris). Arch. Latinoamer. de Nutr. 22(4):547-560. 1972.
96. Navarrete, D.A. y R. Bressani. Protein digestibility and protein quality of common beans (P. vulgaris) fed alone and with maize, in adult humans using short-term nitrogen balance assay. Am.J. of Clin. Nutr. 34: 1893-1898. 1981.
97. Neter, J. y W. Wasserman. Applied linear statistical models Regression, analysis of variance, and experimental designs. Homewood, Illinois. Richard Irwin, Inc. 1974, p.477-480.
98. Núñez, E.I. Efecto de varios solventes sobre la extracción de las diferentes fracciones proteicas del frijol y digestibilidad de las mismas, Tesis, Curso en Ciencias y Tecnología de Alimentos/CESNA/INCAP/Universidad de San Carlos de Guatemala. 1975. 64p.
99. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 7th ed, p.192. Washington, D.C., 1950.
100. Ortega, M.L. Bioquímica. En: Contribuciones al conocimiento del frijol (P. vulgaris) en México. E.M. Engleton (ed), Chapingo, Mexico, Colegio de postgraduados, p. 101-102. 1979. (original no consultado, compendiado de Res. Anal. sobre Frijol, IV, 1979).
101. Osmon, K.I., D.C. Belfour y G.K. Wharton. The effect of common dietary protein on gastric secretion. Am.J. Gastroenterology, 28:432. 1957.
102. Pak, N., A. Mateluna y H. Araya. Effect of different heat treatments on haemagglutinin content and protein quality of beans (P. vulgaris). Arch. Latinoamer. Nutr. 28(2):184-195. 1978.
103. Peri, C. y C. Pompei. Estimation of different phenolic groups in vegetable extracts. Phytochem. 10:2187-2189. 1971.
104. Phillips, D.E., M.D. Eyre, A. Thompson y D. Boultner. Protein quality in seed meals of P. vulgaris and heat-stable factors affecting the utilization of protein. J. of the So. of Ed. and Agric. 32(5):423-432. 1981.
105. Powrie, W., M.W. Adams e I.J. Pflug. Chemical anatomical and histochemical studies on the navy bean seed. Agron. J. 52:163-167. 1960.

106. Price, M.L., S. Van Scoyoc y L.G. Butler. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. J. Agric. Fd. Chem. 26(5):1214-1218. 1978.
107. Putzai, A., G. Grant y R. Palmer. Nutritional evaluation of kidney beans (P. vulgaris): the isolation and partial characterization of toxic constituents. J. of the Sc. of Fd. and Agric. 26(2):149-159. 1975.
108. _____ y R. Palmer. Nutritional evaluation of kidney beans (P. vulgaris): the toxic principle. J. of the Sc. of Fd. and Agric. 28(7):620-623, 1977.
109. _____ y W.B. Watt. Biochem. Biophys. Acta. 207:413. 1970. (original no consultado, tomado de J. Agric. Fd. Chem. 23(2):184-189. 1975).
110. Radhakrishnan, M.R. y J. Sivaprasad. Tannin content of sorghum varieties and their role in iron bioavailability. J. of Agric. and Fd. Chem. 28(1):55-57. 1980.
111. Rachamandra, G., T. Virupaksha y M. Shaderreswany. Relationship between tannin levels and in vitro protein digestibility in finger millet. J. Agric. Fd. Chem. 25(5):1101-1104. 1977.
112. Restrepo, J. Aislamiento e identificación de cuerpos proteicos en el frijol común (P. vulgaris). INCAP/CESNA. Tesis, Curso de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos, 76p. 1979.
113. Rockland, L. y S. Nishi. Tropical grain legumes. En: Tropical Foods: Chemistry and Nutrition. Ed. by Inglett, G.E. y Charalambous. voln 2. N.Y. Academic Press, p. 547-574. 1979.
114. _____ y T. Radke. Legume protein quality. Fd. Tech. 35(3):79-82. 1981.
115. Rodríguez, D. Efecto de los polifenoles sobre la digestibilidad in vivo e in vitro de la proteína del frijol. INCAP/CESNA/Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis, Curso de postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos, 66p. 1982.
116. Romero, J. y D. Ryan. Susceptibility of the major storage protein of the bean (P. vulgaris L.) to in vitro enzymatic hydrolysis. J. Agric. Fd. Chem. 26(4):784-788. 1978.
117. Rosales Arzú, A.M. Estudio sobre la calidad proteínica del frijol y la de tres fracciones derivadas por solubilidad diferencial en niños pre-escolares. INCAP. Tesis Escuela de Nutrición, Guatemala. 48p. 1972.

118. Sanon, L., S. Blanca y J. Mitchelena. Some observations on tannic acid treatment of protein in high molasses/urea diets. Cuban J. of Agric. Sc. 7(1):51-56. 1973. (original no consultado, compendiado de Nutr. Abs. and Rev. 44(10). 1974).
119. Sathe, S.K. y D.K. Salunkhe. Studies of trypsin and chymotrypsin inhibitory activities, haemagglutinating activity and sugars in the Great Northern beans (P. vulgaris). J. of Fd. Sc. 46(2):626-629. 1981.
120. Satterlee, L.D., M. Bembers y J.G. Kendrick. Functional properties of the Great Northern bean (P. vulgaris) protein isolate. J. of Fd. Sc. 40:81. 1975.
121. Saunders, R.M. y Hautala, E. Dietary fibers: chemistry and nutrition. Inglett, G.E. y Falkebag, S.I. (eds). N.Y. Academic Press, 1979, p.79. (original no consultado).
122. Scrimshaw, N.S., M. Hussein, E. Murray, W. Rand y V. Young. Protein requirements of man; variations in obligatory urinary and fecal nitrogen losses in young men. J. Nutr. 102:1595-1603. 1972.
123. Seidl, D., M. Jaffé y W. Jaffé. Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. J. Agric. Fd. Chem. 17(6):1318-1321. 1969.
124. Singleton, V.L. y F.H. Kratzer. Plant phenolics. En: Toxicants occurring naturally in foods. Wash., D.C., National Academy of Science, p.327-339. 1973.
125. Singh, S.H. y K. Sikka. Distribution of nutrients in the anatomical parts of common Indian pulses. Cereal Chem. 45:13-18. 1968.
126. Sgarbieri, V., P.L. Antunes y L.D. Almeida. Nutritional evaluation of four varieties of dry beans (P. vulgaris). J. of Ed. Sc. 44(5):1306-1308. 1979.
127. Stockman, D., T. Hall y D. Ryan. Affinity chromatography of the major seed protein of the bean. (P. vulgaris). Plant Physiology 58:272. 1976.
128. Stewart, R.A., G.W. Hensley y F.N. Peters Jr. The nutritive value of protein. J. Nutr., 26:519-526. 1943.
129. Sun, S.M. y T.C. Hall. Solubility characteristics of globulins from Phaseolus seeds in regards to their isolation and characterization. J. Agr. Fd. Chem. 23(2):184-189. 1975.

CUADRO 1

**DISEÑO DEL PLAN DE ESTUDIO DE LAS DIETAS
EVALUADAS**

Ensayo 1: Los 12 individuos estuvieron durante 5 días en la DLN

Ensayo 2: Consiste en la evaluación biológica del frijol:
A = negro, B = rojo y C = blanco.

Cada casilla represente un período de 5 días.

Cada individuo está descrito como una columna del cuadrado latino y bajo sus siglas.

JP	DV	CP
A	B	C
B	C	A
C	A	B

OH	RR	RH
A	B	C
C	A	B
B	C	A

LG	IP	AS
A	B	C
B	C	A
C	A	B

AG	JA	VA
A	B	C
C	A	B
B	C	A

CUADRO 2

COMPOSICION DE LAS DIETAS BASALES INGERIDAS POR DIA

Ingredientes	Gramos
Café instantáneo	5
Pan de almidón de trigo	250-300
Azúcar	25
Refresco artificial de fruta	2 vasos
Manzana	200
Galleta de almidón de maíz	1 unidad
Agua	1 vaso
* Mermelada de pina o manzana	40
* Margarina	60
* Sopa (a)	400
* Gūisquil (chayote)	200
* Banano	100
Suplemento vitamínico y mineral (b)	

(*) No se incluyen en dieta basal de las dietas a base de frijoles.

(a) A base de jugo de tomate y yerbas coladas (apio, puerro o culantro); cebolla frita en 40 g de margarina y maicena para espesar.

(b) UNICAP-T M.R. y Sandoz, descritas previamente.

Nota: Las fuentes calóricas utilizadas para llenar los requerimientos fueron: refrescos carbonatados, caramelos de naranja y mandarina y galletas de almidón

CUADRO 3

CARACTERISTICAS FISICAS DE LOS SUJETOS EXPERIMENTALES

Sujeto	Edad años	Talla cm	Peso, kg	
			inicial	final
CP	25	160	51.7	50.3
LG	19	160	56.4	54.9
DV	39	153	51.3	51.3
VA	26	168	59.0	57.2
OH	25	162	48.1	47.2
RR	36	172	61.7	59.4
AS	23	158	48.1	46.7
JP	28	168	60.8	59.5
IP	23	163	52.2	50.8
RH	19	175	59.0	57.6
AG	33	169	59.4	59.2
JA	29	171	65.1	65.8
$\bar{X} \pm DS$	27 ± 6	164.9 ± 6.6	56.1 ± 5.6	55.0 ± 5.8

CUADRO 4

CONTENIDO DE INHIBIDORES DE TRIPSINA Y HEMAGLUTININAS EN LAS 3 VARIEDADES
DE FRIJOL CRUDO Y COCIDO

Muestra	UT de TI/100 gms (a)	Ultima dilución hemaglutinante
Frijol crudo:		
Negro	8.8×10^5	9
Rojo	23.6×10^5	6
Blanco	11.6×10^5	6
Frijol cocido:		
Negro	6.3×10^5	No aglutinó
Rojo	6.3×10^5	No aglutinó
Blanco	4.6×10^5	No aglutinó

(a): UT de TI/100 gms = unidades totales de tripsina inhibidas por 100 gramos de muestra seca - son promedios de 3 análisis independientes.

CUADRO 5

ANALISIS DE TANINOS^(a) EN 3 VARIEDADES DE FRIJOL Y PORCENTAJES DE REDUCCION POR COCCION

Frijol		Crudo	Cocido	% de reducci3n por cocci3n
Negro:	ác. tánico (b)	764.6	544.5	28.8
	catequina	101.3	24.9	75.4
	ác. tánico (c)	295.2	105.4	64.3
Rojo:	ác. tánico (b)	811.1	401.8	50.5
	catequina	189.2	19.4	89.7
	ác. tánico (c)	548.6	151.9	72.3
Blanco:	ác. tánico (b)	288.3	262.1	9.1
	catequina	27.0	12.3	55.4
	ác. tánico (c)	1.0	-(d)	-(d)

(a) mg % Base seca.

(b) Según método de Folin-Dennis (25).

(c) Según método de Hagerman-Butler (57).

(d) No se obtuvo resultado.

CUADRO 6

CONTENIDO DE NITROGENO SOLUBLE E INSOLUBLE EN NaOH 0.02 N Y PORCENTAJE DE NITROGENO DEL TOTAL EN FRIJOLES CRUDOS Y COCIDOS, EN DIETAS BASALES Y EN HECES

Muestra	% BS		por c/100 g N total	
	gN sol	gN insol	gN sol	gN insol
Frijol crudo:				
Negro	2.42	1.34	64.2	35.8
Rojo	3.06	0.83	78.7	21.3
Blanco	3.05	1.05	74.4	25.6
Frijol cocido:				
Negro	0.89	2.69	24.8	75.2
Rojo	0.94	2.50	27.3	72.7
Blanco	1.09	2.87	27.5	72.5
Dietas Basales:				
Período DBN	0.21	0.12	64.2	35.8
Período estudio	0.19	0.11	63.7	36.3
Heces (a)				
DBN (b)	3.79 ± .61	1.92 ± .59	66.7 ± 7.7	33.3 ± 7.7
F. Negro	3.39 ± .77	2.36 ± .68	59.0 ± 8.8	41.0 ± 8.8
F. Rojo	3.58 ± .57	2.28 ± .67	61.4 ± 7.7	38.6 ± 7.7
F. Blanco	3.72 ± .69	2.04 ± .86	65.6 ± 8.5	34.4 ± 8.5

(a) Nitrógeno soluble e insoluble ± D.S. excretado durante las respectivas dietas.

(b) DBN = dieta baja en nitrógeno, ingesta 23.2 ± 2.4 mg N/kg/d.

CUADRO 7

FIBRA DIETETICA INSOLUBLE Y SOLUBLE Y PROTEINA DIGERIBLE E INDIGERIBLE EN FRIJOLES COCIDOS, DIETAS BASALES Y HECES DE ADULTOS HUMANOS

Muestra	g % Base seca			
	fibra sintética		proteína (a)	
	insoluble	soluble	indiger.	diger.
Frijol cocido:				
Negro	20.9	7.5	6.5	1.6
Rojo	19.3	8.0	6.5	2.7
Blanco	19.1	9.1	4.7	1.4
Dietas basales:				
Período DBN (b)	11.1	2.2	2.2	0.7
Período estudio	7.2	1.3	1.9	0.8
Heces (c):				
DBN (b)	48.5 ± 7.6	7.2 ± 4.1	13.7 ± 4.5	4.2 ± .8
F. Negro	47.1 ± 2.7	4.6 ± .7	13.6 ± 2.8	3.1 ± .4
F. Rojo	43.8 ± 1.4	4.0 ± 3.6	14.8 ± 4.8	3.0 ± 1.2
F. Blanco	41.9 ± 7.6	5.2 ± 1.0	12.6 ± 5.4	5.4 ± 2.5

(a) La proteína digerible e indigerible se obtuvo por análisis químico.

(b) DBN = dieta baja en nitrógeno, ingesta: 23.2 ± 2.4 mg N/kg/d.

(c) Fibra dietética soluble e insoluble y proteína digerible e indigerible excretada \pm D.S. excretado durante las respectivas dietas.

CUADRO 8

LISINA DISPONIBLE EN FRIJOL FRITO Y SIN FREIR

Frijol	g E NH ₂ lis/ 16 g N		% Recuperación de lisina (a)
	sin freir	frito	
Negro	6.05	6.00	99.0
Rojo	6.12	5.99	98.0
Blanco	5.98	5.72	96.0

(a) % Recuperación lisina =
$$\frac{\text{g E-NH}_2 \text{ lis frijol frito}}{\text{g E-NH}_2 \text{ lis frijol sin freir}} \times 100$$

CUADRO 9

COMPOSICION DE AMINOACIDOS DE 3 VARIEDADES DE FRIJOL

Phaseolus vulgaris

Aminoácidos	Negro (a)		Rojo (b)		Blanco (c)	
	gAA/100g	gAA/16gN	gAA/100g	gAA/16gN	gAA/100g	gAA/16gN
Lisina	1.290	6.704	1.378	7.248	1.276	6.096
Histidina	0.711	3.696	0.835	4.400	0.679	3.248
Amoniaco	0.149	0.768	0.126	0.672	0.126	0.592
Arginina	1.192	6.192	1.070	5.632	1.091	5.216
Ac. Aspártico	1.911	9.936	1.674	8.816	1.937	9.248
Treonina	0.714	3.712	0.671	3.536	0.914	4.368
Serina	0.776	4.032	0.608	3.200	0.856	4.080
Ac. Glutámico	2.230	11.584	2.090	10.992	2.235	10.672
Prolina	1.065	5.536	1.030	5.424	1.118	5.344
Glicina	0.615	3.200	0.620	3.264	0.745	3.552
Alanina	0.700	3.632	0.693	3.648	0.805	3.840
Valina	0.761	3.952	0.793	4.176	0.902	4.304
Metionina	0.151	0.688	0.000	0.000	0.181	0.864
Isoleucina	1.304	6.768	1.455	7.664	1.548	7.392
Leucina	1.353	1.024	1.479	7.792	1.654	7.904
Tirosina	0.527	2.736	0.587	3.088	0.604	2.880
Fenilalanina	0.926	4.816	1.032	5.440	1.120	5.3144
Cistina	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Triptofano	0.093	0.483	0.101	0.530	0.112	0.535

(a) 3.08 gN % BS

(b) 3.04 gN % BS

(c) 3,35 gN % BS

CUADRO 10

INGESTA DE NITROGENO Y DIGESTIBILIDAD APARENTE EN 3 VARIETADES DE FRIJOL

Sujetos	F. Negro		F. Rojo		F. Blanco	
	Ning. (a)	% DA (b)	Ning.	% DA	Ning.	% DA
CP	112.6	67.0	98.2	56.4	104.5	56.7
IG	91.8	57.0	102.0	54.0	104.8	66.1
DV	105.2	31.5	103.6	38.5	108.3	55.5
VA	105.3	45.0	102.0	38.9	112.4	56.0
OH	91.8	33.8	98.2	55.0	108.3	61.1
RR	112.4	54.6	103.4	55.2	104.6	60.8
AS	112.6	60.4	98.2	54.8	104.4	60.3
JP	91.8	50.7	102.0	48.8	104.8	43.6
IP	105.2	42.6	103.6	52.7	108.3	54.1
RH	105.2	62.8	102.0	50.0	104.4	61.3
AG	91.8	51.0	98.2	46.8	108.3	56.5
JA	112.6	55.3	103.6	51.0	104.8	58.9
\bar{x} no ajustado	103.2	51.0	101.2	50.2	106.5	57.6
\pm D.S.	9.0	\pm 11.0	2.4	\pm 6.1	2.6	\pm 5.5
Coef. variac., %	8.7	21.6	2.3	12.2	2.4	9.5
\bar{x} ajustado (c)	-	51.1 (d)	-	50.7 (d)	-	57.0

(a) Ning. = mg de nitrógeno ingerido/kg/d.

(b) % DA = digestibilidad aparente.

(c) Promedio ajustado por diferencias entre sujetos, tiempo y efecto residual.

(d) $S_p \leq .0975$

FR vs FB diferentes $p \leq .06$, según Scheffé (78).

FN vs FB diferentes $p \leq .0975$, según Scheffé (78)

FN vs FR iguales, según Scheffé (78)

CUADRO 11

DIGESTIBILIDAD VERDADERA DEL NITROGENO TOTAL DE 3 VARIEDADES DE FRIJOL

Sujetos	% Digestibilidad verdadera (a)		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	90.0	82.3	81.3
LG	88.9	83.2	94.3
DU	62.4	70.0	85.9
VA	69.6	64.4	79.2
OH	68.5	87.6	91.3
RR	79.7	82.2	87.5
AS	86.5	83.9	87.9
JP	79.9	75.5	69.5
IP	69.8	80.4	80.8
RH	88.5	76.5	87.3
AG	81.0	74.9	82.4
JA	79.7	77.2	84.8
\bar{x} no ajustado \pm DS	78.7 \pm 9.2	78.2 \pm 6.5	84.4 \pm 6.4
Coef variación, %	11.7	8.3	7.6
\bar{x} ajustado (b)	78.9 (c)	78.6 (c)	83.7 (c)

(a) 31.3 ± 2.7 mg nitrógeno fecal endógeno/kg/d.

(b) Promedio ajustado por: diferencia entre sujetos, tiempo y efecto residual.

(c) NS $p \geq 0.05$

CUADRO 12

ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO

DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA PROTEINA DEL FRIJOL

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05%
Sujetos	11	1127.4	102.5	2.47	2.72*
Períodos dentro de cuadros	8	424.1	53.0	1.28	2.85*
Efectos residuales ajustados	2	26.0	13.0	0.31	3.89*
Efectos directos ajustados	2	243.9	122.0	2.94	3.89* (a)
Error	12	498.1	41.5		
Total	35	2471.4			

CUADRO 13

ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO

DIGESTIBILIDAD VERDADERA DEL NITROGENO TOTAL

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05%
Sujetos	11	952.8	86.6	2.14	2.72*
Períodos dentro de cuadros	8	379.0	47.4	1.17	2.85*
Efectos residuales ajustados	2	28.2	14.1	0.35	3.89*
Efectos directos ajustados	2	158.8	79.4	1.96	3.89*
Error	12	485.6	40.5		
Total	35	2125.7			

* NS

(a) $S_p \sqrt{0.0914}$

gl = grados de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrados medios

F = Prueba F de Snedecor

CUADRO 14

BALANCE DE NITROGENO EN HOMBRES ADULTOS DURANTE LA DLN Y LAS DIETAS DE FRIJOLES

Sujetos (a)	Balance de nitrógeno, mg N/kg/d			
	DLN	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	-49.6	+ 0.1	-40.6	-21.4
LG	-72.2	-13.7	- 4.2	- 7.2
DV	-55.1	-55.6	-35.7	- 5.3
VA	-51.5	-11.2	-11.0	+12.2
OH	-52.7	-43.7	-16.6	-32.6
RR	-48.7	-14.8	-20.9	- 6.8
AS	-69.7	- 2.4	-26.6	-33.8
JP	-63.4	- 4.3	-10.0	- 6.2
IP	-56.5	-25.0	-26.4	+ 5.9
RH	-48.8	-10.6	-21.6	-35.8
AG	-46.0	-12.4	-18.2	- 6.7
JA	-56.1	- 2.0	-14.8	-10.3
\bar{x} no ajust.				
+ DS	-55.9 ± 8.4	-16.3 ± 17.2	-20.6 ± 10.6	-12.3 ± 15.4
Coef. var., %	15.1	105.5	51.5	125.2
\bar{x} ajustado (b)	- (c)	-18.3 (d)	-18.9 (d)	-11.9 (d)

(a) S p / 0.05

(b) Promedio ajustado por: diferencias entre sujetos, tiempo y efecto residual

(c) No se incluyó dentro del análisis de varianza

(d) NS p / 0.05

CUADRO 15

UTILIZACION PROTEICA NETA (NPU) EN INDIVIDUOS CONSUMIENDO DIETAS A BASE DE FRIJOL

Sujetos (a)	NPU, %		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	40.3	8.2	24.3
LG	57.3	60.8	56.2
DV	- 0.4	16.8	41.7
VA	34.9	36.4	52.1
OH	8.6	32.5	16.8
RR	27.9	24.7	36.6
AS	54.6	38.9	30.8
JP	58.3	48.1	49.9
IP	27.0	26.3	52.6
RH	33.1	24.5	11.4
AG	33.2	25.8	33.5
JA	44.6	36.6	40.1
\bar{x} no ajustado \pm DS	35.0 \pm 18.1	31.6 \pm 14.0	37.2 \pm 14.5
Coef. variación, %	51.7	44.3	39.0
\bar{x} ajustado (b)	33.5 (c)	32.8 (c)	37.5 (c)

(a) S p \leq 0.05

(b) Promedio ajustado por: diferencia entre sujetos, tiempo y efecto residual

(c) NS p \leq 0.05

CUADRO 16

ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO - BALANCE DE NITROGENO

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05%
Sujetos	11	2823.6	256.7	3.63	2.72 *
Períodos dentro de cuadrados	8	3115.0	389.4	5.53	2.85 *
Efectos residuales ajustados	2	323.8	161.9	2.3	3.89 **
Efectos directos ajustados	2	287.4	143.7	2.0	3.89 **
Error	12	845.2	70.4		
Total	35	7511.5			

CUADRO 17

ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO - UTILIZACION PROTEICA NETA

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05%
Sujetos	11	5183.2	471.2	8.6	2.72 *
Períodos dentro de cuadrados	8	2071.7	259.0	4.7	2.85 *
Efectos residuales ajustados	2	169.4	84.7	1.5	3.89 **
Efectos directos ajustados	2	122.5	61.2	1.1	3.89 **
Error	12	658.4	54.9		
Total	35	8268.8			

* S

** NS

gl = grados de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrado medio

F = Prueba F de Snedecor

CUADRO 18

VALOR BIOLÓGICO EN INDIVIDUOS ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE FRIJOL COMUN

Sujetos (a)	% Valor Biológico		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	67.4	67.6	56.6
LG	89.7	97.8	80.7
DV	34.6	56.1	73.8
VA	77.3	87.0	88.5
OH	50.5	65.0	43.1
RR	56.6	52.4	62.7
AS	88.2	75.3	61.3
JP	99.0	88.9	98.3
IP	67.8	58.3	89.7
RH	58.6	57.2	34.6
AG	66.8	60.7	62.7
JA	77.1	71.0	68.4
\bar{x} no ajustado \pm DS	69.5 \pm 18.2	69.8 \pm 14.7	68.4 \pm 19.0
Coef. variación, %	26.2	21.1	27.8
\bar{x} ajustado (b)	68.4 (c)	71.3 (c)	67.9 (c)

(a) S p \leq 0.05

(b) Promedio ajustado por diferencias entre sujetos, tiempo y efecto residual

(c) NS p \leq 0.05

CUADRO 19

ANALISIS DE VARIANZA - VALOR BIOLÓGICO

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05%
Sujetos	11	7237.9	658.0	7.2	2.72 *
Períodos dentro de cuadros	8	1454.2	181.8	2.0	2.85 **
Efectos residuales ajustados	2	168.9	84.4	1.0	3.89 **
Efectos directos ajustados	2	62.2	31.1	0.34	3.89 **
Error	12	1102.2	91.8		
Total	35	9976.3			

* S = Significativo

** NS = No significativo

gl = grados de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrados medios

F = Prueba F de Snedecor

CUADRO 20

DIGESTIBILIDAD APARENTE DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH EN DIETAS A BASE DE
FRIJOL

Sujetos	% Digestibilidad aparente N soluble NaOH		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	39.0	15.7	16.4
LG	18.4	0.6	15.1
DV	0.0	0.0	3.8
VA	1.8	0.0	18.5
OH	0.0	25.1	25.7
RR	0.0	0.0	6.4
AS	23.6	19.2	6.2
JP	0.0	0.0	0.0
IP	0.0	0.0	0.0
RH	21.2	2.0	12.4
AG	0.0	0.0	0.0
JA	8.7	9.9	30.6
\bar{x} no ajustado \pm DS	9.4 \pm 13.1	6.0 \pm 9.1	11.3 \pm 10.3
Coef. variación, %	139.4	151.7	91.2
\bar{x} ajustado (a)	9.7 (b)	4.9 (b)	12.1 (b)

(a) Promedio ajustado por diferencias por sujetos, tiempo y efectos residuales

(b) NS / 0.05

CUADRO 21

DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH EN HUMANOS ADULTOS
ALIMENTADOS CON DIETAS A BASE DE FRIJOL

Sujetos	% Digestibilidad verdadera de N sol en NaOH		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	88.7	65.7	64.0
LG	87.9	60.4	72.2
DV	14.7	49.1	72.4
VA	55.1	42.0	65.1
OH	31.4	93.6	90.1
RR	63.1	60.0	68.5
AS	85.8	81.7	65.8
JP	43.1	52.1	45.2
IP	53.1	51.5	52.1
RH	80.8	59.4	67.6
AG	63.2	35.6	58.5
JA	59.7	59.6	79.2
\bar{x} no ajustado \pm DS	60.6 \pm 23.2	59.2 \pm 16.0	66.7 \pm 11.8
Coef. variación, %	38.4	27.0	17.7
\bar{x} ajustada (a)	61.3 (b)	59.5 (b)	65.7 (b)

(a) Promedio ajustado por diferencias entre sujetos, tiempo y efecto residual

(b) NS $p \geq 0.05$

CUADRO 22

ANALISIS DE VARIANZA DE CUADRADO LATINO
DIGESTIBILIDAD APARENTE DE NITROGENO SOLUBLE EN NaOH

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05 %
Sujetos	11	2268.6	206.2	2.43	2.72 *
Períodos entre cuadros	8	564.1	70.5	0.83	2.85 *
Efecto residual ajustado	2	108.5	54.2	0.64	3.89 *
Efecto directo ajustado	2	263.3	131.6	1.55	3.89 *
Error	12	1017.4	84.8		
Total	35	4126.3			

CUADRO 23

ANALISIS DE VARIANZA - DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE N SOL NaOH

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05 %
Sujetos	11	4264.0	387.6	1.43	2.72 *
Períodos entre cuadros	8	2666.8	333.4	1.23	2.85 *
Efecto residual ajustado	2	87.06	43.5	0.16	3.89 *
Efecto directo ajustado	2	190.4	95.2	0.35	3.89 *
Error	12	3248.7	270.7		
Total	35	10651.1			

* NS

gl = grados de libertad

SC = Suma de Cuadrados

CM = Cuadrados medios

F = Prueba F de Snedecor

CUADRO 24

DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA FIBRA DIETETICA TOTAL EN 3 VARIEDADES DE
FRIJOL COMUN

Sujetos	% Digestibilidad Aparente fibra total		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	51.7	60.9	52.1
DV	52.1	69.6	43.5
AS	49.9	51.5	59.9
AG	44.6	42.7	33.4
$\bar{x} \pm D.S.$	49.6 \pm 3.4 (a)	56.2 \pm 11.6 (a)	47.2 \pm 11.4 (a)
Coef.de var., %	6.9	20.6	24.2

(a) NS $p \geq 0.05$

CUADRO 25

ANALISIS DE VARTANZA DE 2 VIAS SIN INTERACCION DE LA DIGESTIBILIDAD
APARENTE DE LA FIBRA DIETETICA TOTAL

Fuentes de variación	gl	AS	CM	F	F crítica al 0.05%
Entre tratamiento	2	172.2	86.1	1.41	5.14 *
Entre bloques (sujetos)	3	466.0	155.3	2.55	4.76 *
Residual	6	365.2	60.9		
Total	11	1003.4			

* NS

gl = grados de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrados medios

F = Prueba de Snedecor

CUADRO 26

DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE LA FIBRA DIETETICA TOTAL DE 3 VARIEDADES DE FRIJOL COMUN

Sujetos	% Digestibilidad verdadera		
	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
CP	85.6	79.4	79.1
DV	68.6	89.7	96.6
AS	75.8	94.0	84.1
AG	92.8	80.1	88.9
$\bar{x} \pm DS$	80.7 \pm 10.7 (a)	85.8 \pm 7.2 (a)	87.2 \pm 7.5 (a)
Coef. variac., %	13.3	8.4	8.6

(a) NS / 0.05

CUADRO 27

ANALISIS DE VARIANZA DE 2 VIAS SIN INTERACCION
DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE FIBRA DIETETICA TOTAL

Fuentes de variación	gl	SC	CM	F	F crítica al 0.05 %
Entre tratamiento	2	93.1	46.6	0.46	5.14 *
Entre bloques (sujetos)	3	53.1	17.7	0.17	4.76 *
Residual	6	610.1	101.7		
Total	11	756.3			

* NS

gl = grados de libertad

SC = Suma de cuadrados

CM = Cuadrados medios

F = Prueba de Snedecor

CUADRO 28

CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLÓGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO
FRIJOL NEGRO VARIEDAD TAMAZULAPA

	Dig.Ap	Dig. V.	BN	NPU	VB	N sol exc
Dig.Ap.		0.95*	0.87*	0.73*	0.49	-0.91*
Dig. V.			0.78*	0.75*	0.52	-0.86*
BN				0.87*	0.75*	-0.82*
NPU					0.95*	-0.69*
VB						-0.51
N sol exc						

* $p < 0.05$

CUADRO 29

CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLÓGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO
FRIJOL ROJO

	Dig.Ap	Dig V.	BN	NPU	VB	N sol exc
Dig. Ap.		0.94*	-0.51	0.08	-0.05	-0.67*
Dig. V.			-0.08	0.10	-0.10	-0.65*
BN				0.86*	0.64*	0.06
NPU					0.81*	-0.05
VB						-0.01
N.sol. exc						

* P / 0.05

CUADRO 30
CORRELACION LINEAL ENTRE MEDIDAS BIOLÓGICAS EN HUMANOS ADULTOS CONSUMIENDO
FRIJOL BLANCO

	Dig.Ap.	Dig.V.	BN	NPU	VB	N sol exc
Dig. Ap.		-0.95*	-0.38	-0.31	-0.58	-0.75*
Dig. V.			-0.43	-0.31	-0.57	-0.63
BN				0.86*	0.83*	0.31
NPU					0.95*	0.36
VB						0.53
N.sol exc						

* $P \leq 0.05$

CUADRO 31

CONTENIDO DE TANINOS INGERIDOS EN FRIJOLES COCIDOS, EXCRECION FECAL DE NITROGENO TOTAL Y DIGESTIBILIDAD APARENTE (DA)

	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
Catequina (a)	37.1 ± 4.9	28.8 ± 3.3	17.2 ± 1.7
Ac. tánico (a, b)	809.9 ± 107.9	588.7 ± 67.1	365.3 ± 35.6
Nitrógeno fecal (c)	55.4 ± 12.1	55.7 ± 7.1	49.6 ± 6.6
DA, %	51.0 ± 11.0	50.2 ± 6.1	57.6 ± 5.5

(a) mg ingeridos/día

(b) Según métodos de Folin-Denis (25)

(c) mg N/kg/día

CUADRO 32

PUNTAJE (a) DE AMINOACIDOS LIMITANTES EN LOS FRIJOLES COCIDOS

AA (b)	Frijol Negro	Frijol Rojo	Frijol Blanco
AA azufrados	0.19	0.00	0.24
Triptofano	0.50	0.55	0.56
Valina	0.80	0.84	0.87
Treonina	0.93	0.88	1.09

(a) Puntaje = $\frac{\text{mg AA/16 gN en la proteína bajo prueba}}{\text{mg AA/16 gN en el patrón de referencia}}$

Patrón de referencia FAO/WHO, 1973 (72)

(b) AA = aminoácido

Cuadro 33

Absorción y digestibilidades de aminoácidos en 4 individuos
alimentados con dietas a base de frijol negro (FN)

A.A.	Ingesta ¹			Excreción ¹		Absorción ¹		Digestibilidad, %	
	DB	FN	Total	HFr	HDB	Apar.	Vard.	Apar.	Verd.
Lisina	4.78 +0.58	45.96 +1.51	50.73 +1.55	21.42 +7.07	15.98 +4.42	29.31 +8.14	45.30 +11.1	57.5+ 15.0-	89.0+ 20.0-
Histidina	0.00 +0.00	25.34 +0.83	25.34 +0.83	12.56 +3.96	6.15 +4.5	12.78 +4.74	18.93 +7.48	50.0+ 17.1-	74.3+ 29.0-
Amoníaco	1.30 +0.15	5.26 +0.17	6.49 +0.21	2.99 +1.10	2.19 +0.52	3.51 +1.23	5.70 +0.75	53.7+ 17.7-	87.6+ 9.7-
Arginina	4.10 +0.50	42.45 +1.40	46.54 +1.42	14.20 +3.70	8.96 +1.5	32.34 +5.06	41.31 +3.58	69.3+ 8.8-	88.6+ 5.0-
Ac. aspártico	7.91 +0.96	68.11 +2.24	76.03 +2.32	30.78 +11.8	15.66 +1.93	45.25 +13.0	60.91 +1.34	59.3+ 16.4-	79.9+ 16.5-
Treonina	2.87 +0.35	25.47 +0.84	28.31 +0.86	13.74 +3.72	7.63 +1.28	14.58 +4.35	22.20 +3.29	51.2+ 14.3-	78.3+ 10.3-
Serina	2.46 +0.30	27.64 +0.91	30.10 +0.92	11.86 +3.27	6.66 +0.55	18.23 +3.99	24.89 +3.84	60.5+ +1.9-	82.5+ 10.8-
Ac. glutámico	8.59 +1.0	79.41 +2.61	88.00 +2.68	32.17 +12.5	17.57 +0.76	55.83 +14.2	73.40 +13.7	63.2+ 15.1-	83.2+ 14.2-
Prolina	3.55 +0.43	37.95 +1.25	41.50 +1.27	19.44 +5.83	11.10 +0.85	22.05 +6.52	33.16 +6.23	53.0+ 15.0-	78.8+ 14.0-
Glicina	2.46 +0.30	21.94 +0.72	24.40 +0.74	14.15 +4.51	8.64 +0.62	10.24 +4.97	18.88 +4.52	41.7+ 19.8-	77.1+ 17.1-
Alanina	3.14 +0.38	24.90 +0.82	28.04 +0.86	16.18 +5.56	9.86 +0.87	11.85 +6.10	21.71 +5.40	42.0+ 21.1-	77.2+ 17.8-
Valina	2.46 +0.30	27.09 +0.89	29.55 +0.90	29.82 +11.4	9.03 +6.0	8.73 +11.8	17.76 +9.52	29.1+ 39.9-	59.8+ 32.1-
Metionina	0.00 +0.00	4.72 +0.16	4.72 +0.16	7.48 +3.94	4.65 +1.64	-2.76 +4.08	1.89 +3.02	0.0+ 0.0-	38.6+ 63.3-
Isoleucina	4.23 +0.51	46.40 +1.52	50.62 +1.54	25.60 +7.37	15.73 +3.16	25.02 +8.52	40.75 +5.44	49.2+ 14.7-	80.4+ 9.1-
Leucina	4.64 +0.56	48.15 +1.58	52.79 +1.61	22.79 +5.12	13.74 +2.73	30.00 +4.63	43.74 +4.63	56.6+ 12.5-	82.8+ 7.0-
Tirosina	0.00 +0.00	18.76 +0.62	18.76 +0.62	10.86 +3.60	6.94 +1.64	7.89 +4.13	14.83 +2.52	41.6+ 21.2-	78.9+ 11.6-
Fenilalanina	3.82 +0.46	33.01 +1.09	36.83 +1.12	14.45 +3.82	8.47 +1.8	22.40 +4.53	30.87 +2.78	60.7+ 11.1-	83.8+ 6.4-
Triptofano	0.98 +0.10	3.19 +0.30	4.17 +0.36	2.67 +1.14	1.88 +0.45	1.50 +1.13	3.38 +0.82	33.0+ 26.2-	81.8+ 22.4-
						(con metionina)		48.6+ 15.9-	80.8+ 11.8-
						(sin metionina)		51.4+ 10.6-	80.3+ 6.7-

(1) mg/kg/d DB=dieta basal H=heces

Cuadro 34

Absorción y digestibilidad de aminoácidos en 4 individuos alimentados con dieta a base de frijol rojo.

A.A.	Ingesta ¹			Excreción ¹		Absorción ¹		Digestibilidad ²	
	DB	FN	Total	HRr	HDB	Apar.	Verd.	Apar.	Verd.
Lisina	5.08	45.08	50.16	23.07	15.98	27.10	43.08	54.2+	86.1+
	+0.49	+1.23	+1.37	+8.94	+4.42	+8.33	+12.1	17.1-	25.0-
Histidina	0.00	27.40	27.37	11.25	6.15	16.12	22.27	59.1+	81.4+
	+0.00	+0.75	+0.75	+7.54	+4.49	+7.28	+10.5	27.4-	38.7-
Amoníaco	1.31	4.18	5.49	3.01	2.19	2.48	4.67	45.1+	85.0+
	+0.13	+0.11	+0.18	+0.71	+0.52	+0.70	+0.51	12.8-	8.7-
Arginina	4.36	35.03	39.39	14.55	8.96	24.84	33.80	63.1+	85.9+
	+0.42	+0.96	+1.09	+4.94	+1.5	+4.62	+3.87	12.2-	10.2-
Ac. aspártico	8.42	54.84	63.26	28.55	15.66	34.71	50.37	54.9+	79.7+
	+8.1	+1.49	+1.78	+5.32	+1.93	+4.85	+6.45	7.9-	10.3-
Treonina	3.05	21.99	25.05	14.77	7.63	10.28	17.91	41.1+	71.6+
	+0.29	+0.60	+0.70	+1.44	+1.28	+0.78	+1.46	4.1-	6.5-
Serina	2.62	19.90	22.52	12.85	6.66	9.67	16.33	43.0+	72.5+
	+0.25	+0.54	+0.62	+1.04	+0.55	+0.45	+0.68	3.0-	3.7-
Ac. glutámico	9.14	68.37	77.51	31.46	17.57	46.06	63.63	59.5+	82.1+
	+0.98	+1.86	+2.15	+5.42	+0.76	+4.82	+5.14	6.5-	6.8-
Prolina	3.77	33.74	37.51	19.74	11.10	17.77	28.88	47.4+	77.0+
	+0.36	+0.92	+1.03	+4.76	+0.85	+4.76	+3.92	12.7-	10.4-
Glicina	2.62	20.32	22.93	15.04	8.64	7.89	16.53	34.4+	72.1+
	+0.25	+0.54	+0.63	+1.77	+0.62	+1.5	+1.51	6.8-	6.5-
Alanina	3.34	22.69	26.03	16.93	9.9	9.10	18.96	35.0+	72.8+
	+0.32	+0.62	+0.73	+2.50	+0.9	+2.3	+2.37	8.9-	8.9-
Valina	2.62	25.98	28.59	19.43	9.03	9.16	18.19+	32.6	64.1+
	+0.25	+0.71	+0.78	+10.1	+5.98	+9.44	+9.75-	33.0	34.8-
Metionina	0.00	0.00	0.00	8.95	4.65	-8.95	-4.29	0.0+	0.0+
	+0.00	+0.00	+0.00	+2.93	+1.64	+2.93	+1.62	0.0-	0.0-
Isoleucina	4.50	47.67	52.17	28.04	15.73	24.13	39.86	46.3+	76.4+
	+0.43	+1.30	+1.42	+3.43	+3.43	+2.65	+1.54	5.6-	2.7-
Leucina	4.93	48.47	53.40	24.34	13.74	29.06	42.80	54.5+	80.2+
	+0.48	+1.32	+1.45	+2.06	+2.73	+0.93	+1.85	2.7-	2.8-
Tirosina	0.00	19.21	19.21	12.24	6.94	6.97	13.91	36.5+	72.5+
	+0.00	+0.52	+0.52	+2.55	+1.64	+2.07	+0.77	11.4-	5.2-
Fenilalanina	4.06	33.84	37.90	16.43	8.47	21.47	29.94	56.8+	79.1+
	+0.39	+0.92	+1.04	+3.51	+1.84	+2.68	+1.16	8.1-	4.9-
Triptofano	1.03	3.30	4.33	3.08	1.88	1.26	3.14	29.0+	72.4+
	+0.10	+0.09	+0.14	+1.03	+0.45	+1.02	+0.65	23.4-	14.9-
								(con metionina)	44.0+
									15.1-
								(sin metionina)	46.6+
									10.7-
									72.8+
									19.1-
									77.1+
									6.1-

(1) mg/kg/d DB=dieta basal H=heces

Cuadro 35

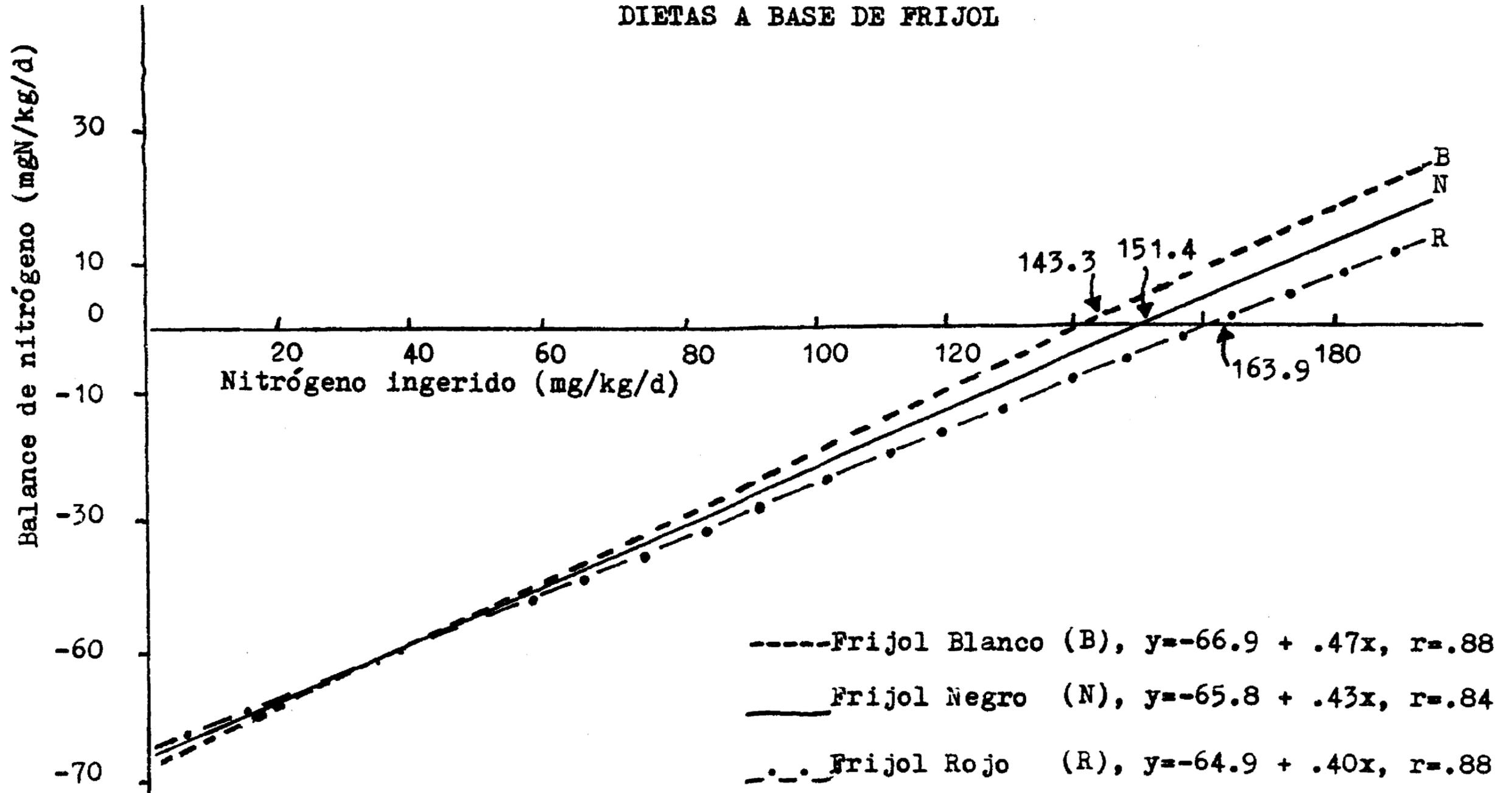
Absorción y digestibilidad de aminoácidos en 4 individuos alimentados con dieta a base de frijol blanco.

A.A.	Ingesta ¹			Excreción ¹		Absorción ¹		Digestibilidad ²	
	DB	FBI	Total	HFr	HDB	Apar.	Verd.	Apar.	Verd.
Lisina	4.88 +47	38.96 +2.74	43.83 +3.12	24.76 +4.01	15.98 +4.42	19.07 +4.80	35.05 +3.78	43.3+ 9.3-	79.8+ 3.4-
Histidina	0.00 +00	20.76 +1.46	20.76 +1.46	11.01 +2.40	6.15 +4.49	9.75 +2.69	15.90 +5.63	46.8+ 11.4-	75.4+ 22.8-
Amoníaco	1.26 +12	3.78 +27	5.04 +37	3.27 +48	2.19 +52	1.77 +84	3.96 +98	34.3+ 15.2-	78.1+ 15.5-
Arginina	4.18 +40	33.33 +2.35	37.52 +2.67	15.85 +5.54	8.96 +1.52	21.67 +6.35	30.63 +7.25	57.5+ 14.9-	81.5+ 17.2-
Ac. aspártico	8.08 +78	59.10 +4.16	67.18 +4.79	24.20 +1.62	15.66 +0.93	42.97 +5.80	58.63 +6.96	63.7+ 4.6-	87.1+ 5.4-
Treonina	2.93 +28	27.91 +1.97	30.84 +2.19	12.43 +1.25	7.63 +1.28	18.41 +1.92	26.06 +1.56	59.6+ 3.6-	84.5+ 3.0-
Serina	2.51 +24	26.07 +1.84	28.58 +2.03	9.90 +1.02	6.66 +0.55	18.68 +1.57	25.34 +1.81	65.3+ 2.6-	88.7+ 2.8-
Ac. glutámico	8.77 +85	68.20 +4.80	76.97 +5.48	20.84 +6.42	17.57 +0.76	56.13 +11.1	73.70 +11.7	72.5+ 10.1-	95.3+ 9.4-
Prolina	3.62 +35	34.15 +2.41	37.77 +2.68	14.84 +3.34	11.10 +0.85	22.93 +6.00	34.03 +5.90	60.0+ 12.4-	89.6+ 9.9-
Glicina	2.51 +24	22.70 +1.60	25.21 +1.79	12.53 +1.30	8.64 +0.62	12.68 +1.92	21.31 +2.25	50.2+ 5.4-	84.4+ 4.5-
Alanina	3.20 +31	24.54 +1.73	27.74 +1.98	14.51 +1.37	9.86 +0.87	13.23 +1.74	23.09 +2.21	47.6+ 4.4-	83.2+ 4.6-
Valina	2.51 +24	27.50 +1.94	30.01 +2.13	22.21 +6.13	9.03 +5.98	7.81 +6.62	16.84 +4.25	25.6+ 21.3-	55.9+ 12.2-
Metionina	0.00 +00	5.52 +39	5.52 +39	8.37 +2.59	4.65 +1.64	-2.85 +2.59	1.80 +2.18	0.0+ 0.0-	31.3+ 40.0-
Isoleucina	4.32 +42	47.24 +3.33	51.55 +3.66	25.38 +2.82	15.73 +3.16	26.18 +2.06	41.91 +2.06	50.7+ 4.6-	81.4+ 3.0-
Leucina	4.73 +46	50.51 +3.56	55.24 +3.92	21.59 +1.88	13.74 +2.73	33.66 +3.37	47.39 +3.06	60.9+ 3.1-	85.9+ 2.7-
Tirosina	0.00 +00	18.40 +1.30	18.40 +1.30	10.89 +3.04	6.94 +1.64	7.52 +2.75	14.46 +1.39	41.0+ 14.6-	78.7+ 7.5-
Fenilalanina	3.90 +38	34.15 +2.41	38.05 +2.71	13.59 +3.89	8.47 +1.84	24.46 +3.07	32.93 +1.61	64.5+ 8.6-	86.9+ 7.5-
Triptofano	0.98 +12	3.56 +08	4.54 +08	3.21 +45	1.88 +45	1.33 +45	3.21 +45	29.3+ 9.7-	70.7+ 9.9-
						(con metionina)		48.5+ 17.8-	78.8+ 14.6-
						(sin metionina)		51.3+ 13.4-	81.6+ 8.8-

(1) mg/kg/d DB=dieta basal H=heces

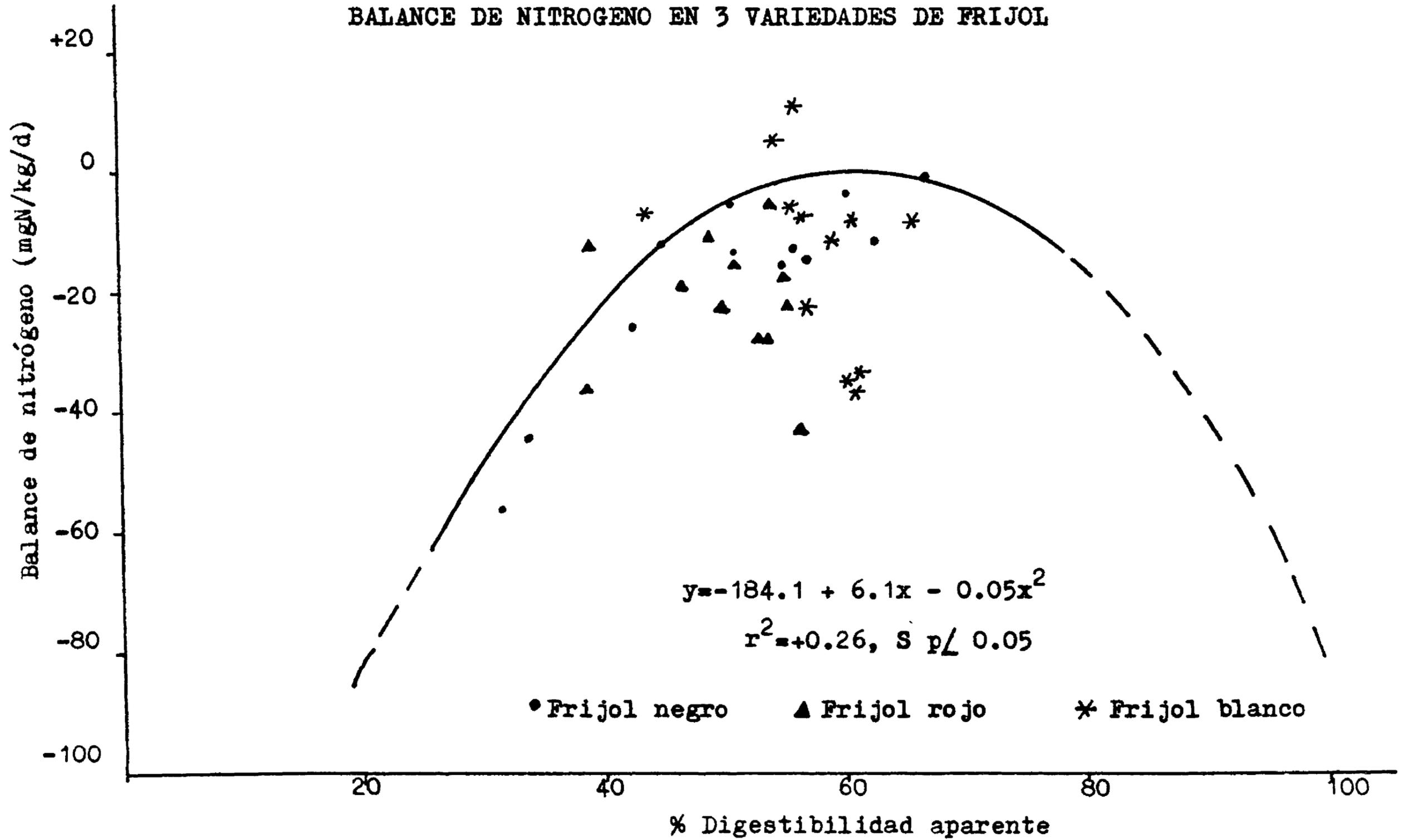
GRAFICA 1

REGRESION ENTRE BALANCE DE NITROGENO Y NITROGENO
INGERIDO POR HUMANOS ADULTOS, EN
DIETAS A BASE DE FRIJOL



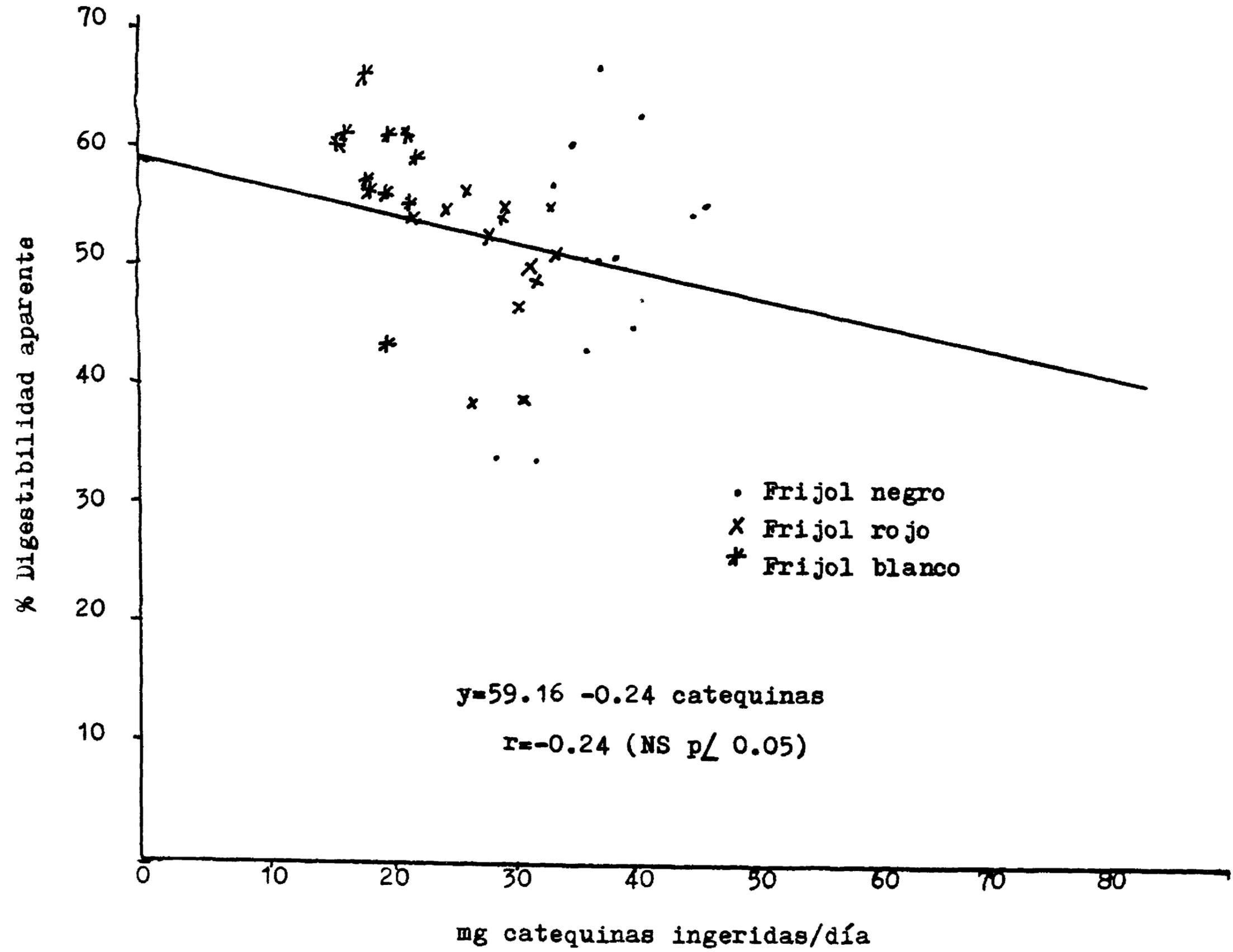
GRAFICA 2

REGRESION CUADRATICA ENTRE DIGESTIBILIDAD APARENTE Y
BALANCE DE NITROGENO EN 3 VARIEDADES DE FRIJOL



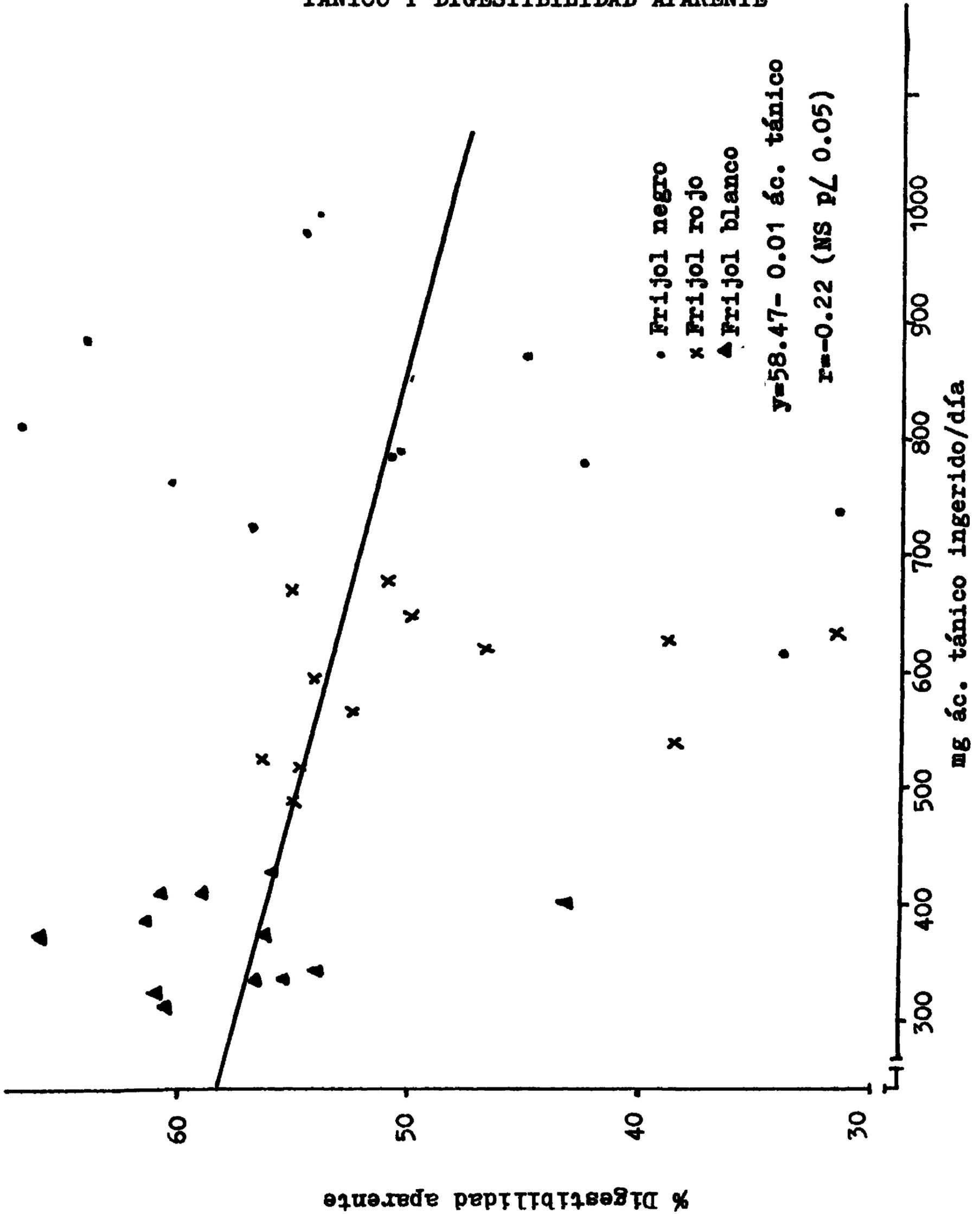
GRAFICA 3

REGRESION LINEAL ENTRE INGESTA DE CATEQUINAS
Y DIGESTIBILIDAD APARENTE



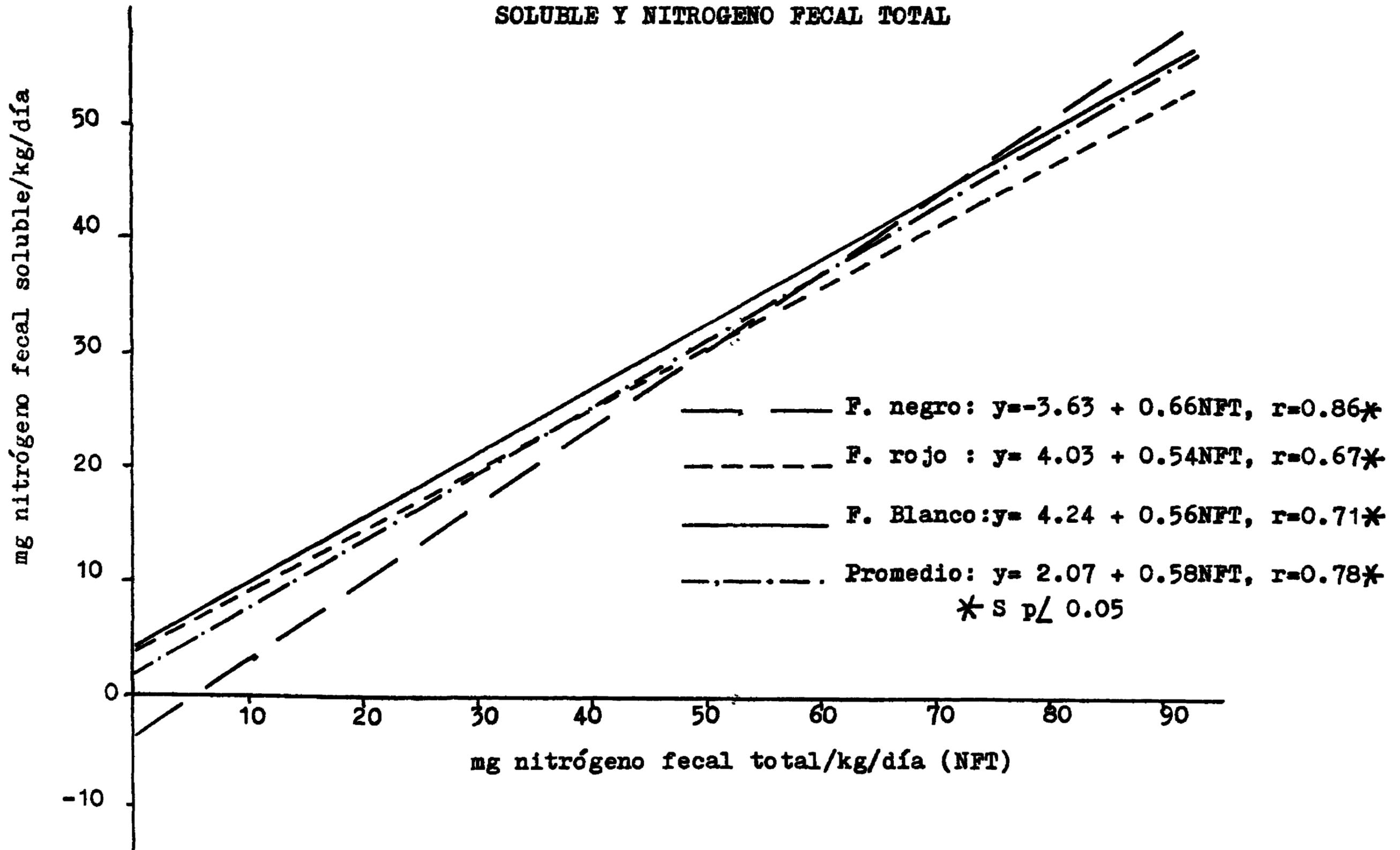
GRAFICA 4

REGRESION LINEAL ENTRE INGESTA DE ACIDO
TANICO Y DIGESTIBILIDAD APARENTE



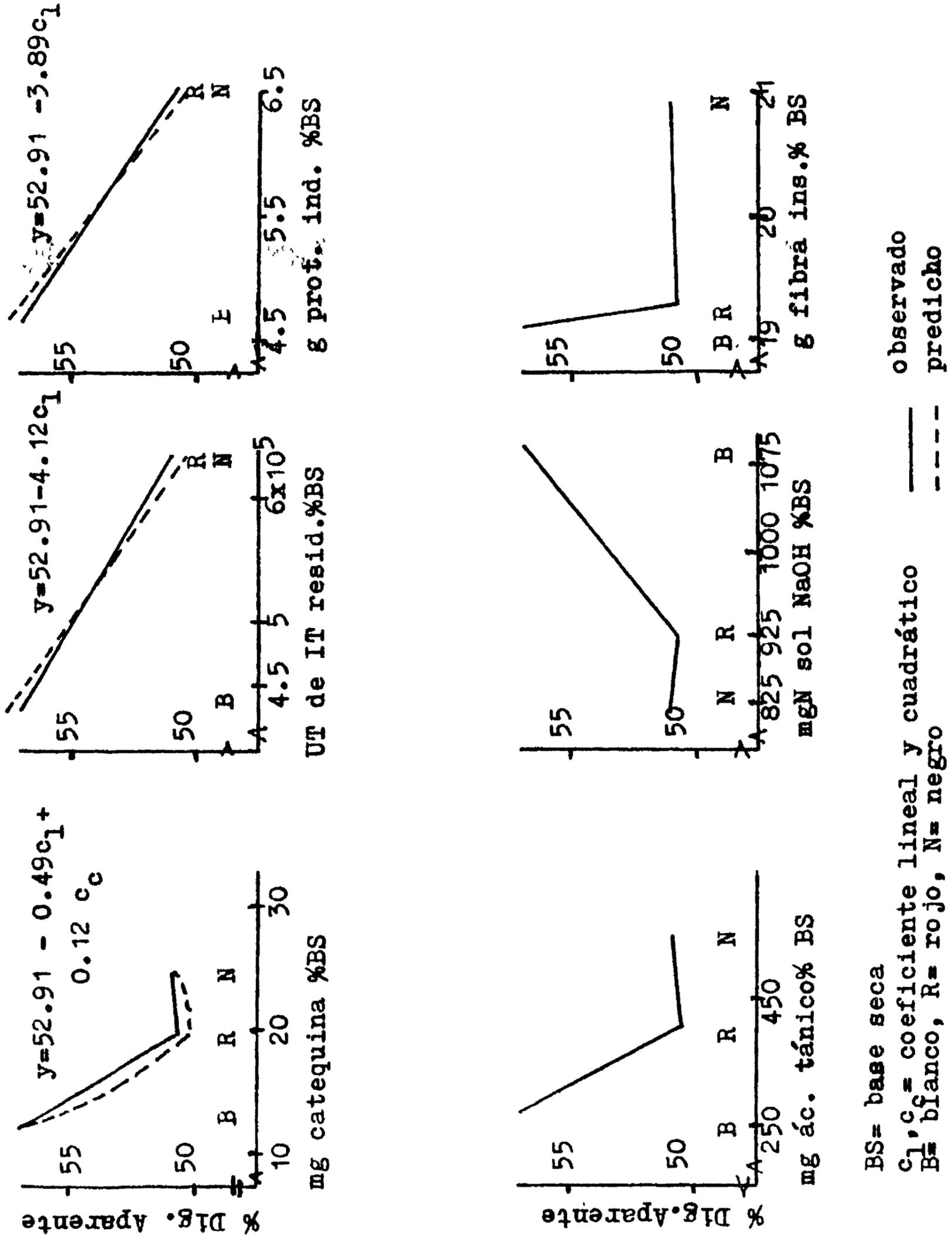
GRAFICA 5

REGRESION LINEAL ENTRE NITROGENO FECAL
SOLUBLE Y NITROGENO FECAL TOTAL



GRAFICA 6

ANALISIS QUIMICOS EN FRIJOL VS DIGESTIBILIDAD APARENTE AJUSTADA



VISTO BUENO
COMITE DE TESIS

Adriana Blanco

Adriana Blanco

Ricardo Bressani

Dr. Ricardo Bressani

Delia A. Navarrete

Dra. Delia A. Navarrete

R. Gómez Brenes

Dr. Roberto Gómez Brenes

Luiz G. Elías

Dr. Luiz G. Elías

Imprímase

José Héctor Aguilar A.

Dr. José Héctor Aguilar A.
Decano de la Facultad de
Ciencias Químicas y Farmacia