

CARACTERIZACION DE CUATRO VARIEDADES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) POR SUS CUALIDADES FISICAS Y NUTRICIONALES. I. ASPECTOS METODOLOGICOS ¹

Carmen Jacinto Hernández², Guillermo Carrillo Castañeda³, Albino Campos Escudero⁴

RESUMEN

Caracterización de cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por sus cualidades físicas y nutricionales. I. Aspectos metodológicos. La semilla de las variedades de frijol: BAT 104, Bayo Río Grande, Canario 107 y Jamapa se evaluaron con el objetivo de caracterizarla mediante el análisis del contenido de proteína, L-triptofano (L-trp) y L-metionina disponible (L-met), así como sus cualidades tecnológicas. Se realizaron pruebas preliminares sobre contenido de L-met y L-trp en proteína soluble en extractos acuosos de NaCl, ácido acético y etanol empleando los métodos microbiológico y espectrofotométrico, respectivamente. Bayo Río Grande, la de mayor tiempo de cocción (98 minutos), mostró la mayor proporción en peso de testa (11,4); sin embargo, junto con BAT 104 y Jamapa fueron las de menor tamaño. BAT 104, fue la variedad en que se detectó el mayor contenido de proteína total (27,3 %) contrastando con Bayo Río Grande (23,3%). En promedio de las cuatro variedades el contenido de ambos aminoácidos resultó mayor en los extractos salinos (43 % L-met y 92 % L-trp). En consecuencia las determinaciones subsiguientes se realizaron únicamente en los extractos salinos de los materiales. Las variedades Bayo Río Grande y Canario 107 tuvieron la mayor cantidad de L-met y L-trp, respectivamente.

ABSTRACT

Characterization of four bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties by physical and nutritional qualities. I. Methodological aspects. Seeds of four bean varieties: BAT 104, Bayo Río Grande, Canario 107 and Jamapa were studied with the objective of characterize them by the analysis of protein content, L-tryptophan (L-trp) and available L-methionine (L-met) as well as technological qualities. Preliminary tests on the L-met and L-trp content were performed in soluble protein in aqueous extracts of NaCl, acetic acid and ethanol using microbiological and spectrometrical methods. Bayo Río Grande with the longest cooking time (98 minutes) showed the largest proportion of coat weight (11.4); Bayo Río Grande, BAT 104 and Jamapa showed small seed size. BAT 104 was the variety in which the highest total protein content was found (27.3 %) while Bayo Río Grande had the lowest (23.3 %). The average content of both aminoacids from the four varieties was higher in the saline extracts (43 % L-met and 92 % L-trp). Therefore, the subsequent analysis were only performed on the saline extracts of the materials. The cultivars Bayo Río Grande and Canario 107 showed the highest amount of L-met and L-trp respectively.

INTRODUCCION

Las proteínas de reserva de la semilla de *P. vulgaris*, que proveen los nutrimentos para el desarrollo del embrión, también son un elemento importante en la dieta humana. Sin embargo, el crecimiento de la población, la disminución del poder adquisitivo y la disponibilidad de productos alimenticios (a base de cereales) de menor costo que el frijol, han influido en la disminución

del consumo per capita de este grano, razón por la cual es prioritario, además de incrementar sus rendimientos agrícolas, elevar su calidad nutricional. Una alternativa ha sido a través del mejoramiento genético incrementando la cantidad de aminoácidos azufrados y triptofano. Otro antecedente es el hecho de que se han detectado diferencias varietales en el contenido de proteína (Tulman; Koo y Cuevas-Ruíz, 1978) y aminoácidos azufrados, características que pueden ser fuertemente

¹ Presentado en la XLI Reunión Anual del PCCMCA en Honduras, América Central. 26 de marzo - 1 de abril, 1995.

² Laboratorio de Calidad de Proteínas. (INIFAP-SARH). Apdo. Postal 10. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México.

³ Centro de Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. C. P. 56230, México.

⁴ Programa de Frijol. (INIFAP-SARH). Apdo. Postal 10. C.P. 56230, Chapingo, Edo. de México.

afectadas por el ambiente (Laris *et al.*, 1991). Si bien ya se ha logrado incrementar en forma considerable el contenido de proteína y globulina I (Mutschler y Bliss, 1981), en ciertas variedades es importante establecer condiciones experimentales que pueda aplicarse de manera rutinaria para mejorar la calidad de este grano.

El objetivo del presente estudio fueron caracterizar cuatro variedades de frijol mediante el análisis del contenido de proteína, L-triptofano, L-metionina y sus cualidades tecnológicas.

MATERIALES Y METODOS

Material biológico

Semillas de *P. vulgaris* de las variedades de frijol: BAT 104, Bayo Río Grande, Canario 107 y Jamapa, fueron elegidas mediante selección preliminar en cuanto a su contenido de proteína, de un total de diez materiales. Estas variedades, a excepción de BAT 104, se siembran en amplias zonas del territorio nacional, y fueron proporcionadas por el Programa de Frijol del INIFAP; también se utilizó el microorganismo *Salmonella typhimurium* LT-2 met A55 proporcionado por el Laboratorio de Genética Molecular del Colegio de Postgraduados.

Evaluación de características tecnológicas de la semilla

Como variables de comparación se emplearon el peso y tamaño, evaluado éste último como volumen de 100 semillas, el porcentaje en peso de testa, tiempo de cocción y espesor del caldo de cocción (sólidos en el caldo). Estas determinaciones se realizaron por duplicado de acuerdo a la metodología descrita en el manual del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (Elías; García y Bressani, 1986).

Preparación de extractos

Las semillas libres de testa fueron molidas en un molino con malla de 0,4 mm. Un gramo de harina fue utilizado para realizar la extracción en soluciones de: cloruro de sodio 0,5 M, preparado en amortiguador de fosfatos 0,03 M pH 7,4; 70 % v/v de etanol; y ácido acético 0,05 M. Tres extracciones sucesivas se realizaron hasta completar treinta mililitros de cada extracto de acuerdo al método de Osborne (1907).

Determinación de proteína

La cantidad de proteína presente en los extractos de harina de frijol se determinó con el equipo Technicon

Autoanalyzer II en pares de muestras alícuotas de cada extracto de 1 ml, y por el método de Lowry, *et al.* (1951) empleando pares de muestras alícuotas de 5 µl del sobrenadante de los extractos centrifugados (22 000 x g durante 15 minutos a 10 °C).

Determinación de aminoácidos

Inicialmente se realizaron pruebas preliminares para cuantificar el contenido de L-metionina (L-met) y L-triptofano (L-trp) en los extractos: salinos, etanólicos y de ácido acético para definir cual extracto podría ser considerado como indicador de la calidad de la proteína del grano. Posteriormente se determinó la cantidad de ambos aminoácidos, en tres experimentos independientes, utilizándose para ello seis extractos salinos por variedad (dos en cada experimento) realizándose en total 20 determinaciones de L-met y 16 de L-trp. Para expresar los datos en términos de mg de aminoácido por 100 mg de proteína en extracto de harina de frijol, se consideró el contenido de proteína determinado por el método de Lowry, *et al.* (1951) en el caso de L-met, y para L-trp, el de Technicon (1974).

Determinación microbiológica de L-metionina disponible

Para evaluar la cantidad de L-met presente en los extractos, se siguió el método microbiológico descrito por Mendoza y Carrillo (1979), empleando muestras alícuotas de 200 µl de extractos centrifugados.

Determinación de L-triptofano

Este aminoácido se analizó según el método de Opienska-Blauth, modificado por Hernández y Bates (1969), utilizando 1 ml del extracto de harina de frijol.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características tecnológicas

En el Cuadro 1 se observa que el mayor contraste en el peso y volumen de la semilla fue entre las variedades Canario 107 y Jamapa.

La variedad Bayo Río Grande, con la mayor proporción de testa, resultó ser también la de mayor tiempo de cocción. Jamapa y BAT 104 mostraron la menor proporción de sólidos, contrastando con Canario 107. El tamaño de las semillas fue directamente proporcional a su peso. La aceptación que el consumidor tiene por la variedad Canario 107 en el Altiplano Central de México, se debe posiblemente a las características

Cuadro 1. Características tecnológicas de cuatro variedades de frijol. México. 1993.

Variedad	peso de 100 g	volumen semillas ml	testa %	tiempo de cocción min.	sólidos %
Bayo Río Grande	18,8	24,0	11,4	98	0,31
Jamapa	16,7	20,0	10,0	72	0,24
Canario 107	36,4	44,0	9,1	80	0,56
BAT 104	18,7	24,0	9,7	93	0,25

que aquí se describen, sobre todo por su rápida cocción y lo espeso de su caldo.

El contenido de proteína en grano integral en las variedades estudiadas varió de 23 a 27 %; mientras que en la harina obtenida de los materiales libres de testa, la proporción se incrementó según se aprecia en el Cuadro 2. Lo anterior se debe a que el contenido de nitrógeno en el cotiledón es considerablemente superior al de la testa.

Cuadro 2. Contenido de proteína en cuatro variedades de frijol: Harina de grano integral (HI) y de grano sin testa (HST). México. 1993.

Variedad	Porcentaje de proteína en harina	
	HI	HST
Bayo Río Grande	23,3	25,1
Jamapa	24,4	27,7
Canario 107	24,8	26,6
BAT 104	27,3	32,2

Determinación realizada por el método Technicon.

Proteína soluble en los extractos de harina de frijol libre de testa

En las cuatro variedades se observó que en los extractos de cloruro de sodio se detectó más del 80 % del nitrógeno total, seguida de los de ácido acético y finalmente los etanólicos.

El hecho de que en la fracción salina se encuentre la mayor proporción del nitrógeno total coincide con lo indicado por otros autores, entre ellos Osborne (1985) señala que en la fracción salina se encuentran las globulinas, y por tanto la globulina I, que es la principal proteína en la semilla de frijol. De manera contrastante

en muchos cereales las prolaminas (solubles en solución etanólica), junto con glutelinas (solubles en solución acidulada) representan más del 80% de la proteína de reserva de la semilla (Larkins, 1981).

Contenido de L-metionina y L-triptofano en los extractos de harina de frijol libre de testa

El análisis del contenido de los aminoácidos L-met y L-trp (Figura 1) en los extractos de harina de frijol libres de testa determinado de manera preliminar, demostró que la L-met se encuentra distribuida en los tres extractos probados, sin embargo, la mayor cantidad (aproximadamente 43 %) se detectó siempre en el extracto salino. El contenido de L-trp también fue mayor en el extracto salino (aproximadamente 92 %); y se considera que aún cuando hubiese un incremento en metionina y triptofano en la proteína extraída en etanol o ácido acético este sería de poco valor desde el punto de vista práctico. Estos resultados reafirman lo encontrado por Gepts y Bliss, (1984), que indican que a mayor cantidad de globulina-1 presente en el extracto se incrementa la proporción de L-met disponible. Lo anterior a pesar de que globulina-1 contiene pocos residuos de L-met, representa la principal fuente de este aminoácido en el frijol común, porque constituye una gran parte de la proteína de reserva de la semilla.

Basados en estos resultados, y considerando la aplicación práctica de esta metodología en la selección de variedades de frijol de mayor calidad nutritiva, resulta más conveniente por tiempo y reactivos, realizar la determinación de estos aminoácidos únicamente en el extracto salino que es la fracción donde se detectó el mayor contenido de ambos aminoácidos. Es importante tener presente que los datos sobre contenido de L-met y L-trp se refieren a la metionina y triptofano en la fracción soluble en la solución diluida de cloruro de sodio y los datos que se reportan son en relación a dicha fracción, la que en este caso representó más del 80% del nitrógeno total de la semilla.

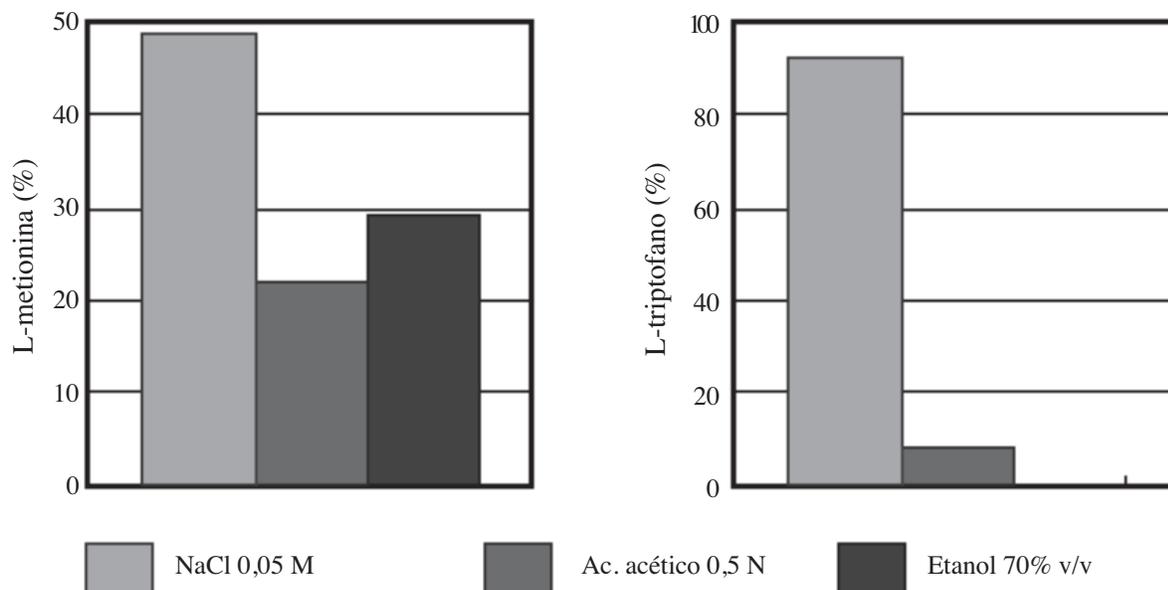


Fig. 1. Contenido proporcional de los aminoácidos L-met y L-trp, presentes en promedio en la harina de grano de frijol sin testa de las variedades: BAT 104, Bayo Río Grande, Canario 107 y Jamapa, extraídos con tres soluciones acuosas. México. 1993.

Los valores de L-met disponible en el extracto salino resultan proporcionales a los indicados por Kelly (1971) para L-met en la proteína total del grano de frijol. Al comparar los valores de la media del contenido de L-met en las cuatro variedades estudiadas (Cuadro 3), se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$), detectándose una relación inversamente proporcional del contenido de este aminoácido con el contenido de proteína determinada en extractos de harina libre de testa, resultado que coincide con lo encontrado por Evans (1978), quien calculó un coeficiente de correlación significativo de $-0,53$ entre proteína y L-met

Cuadro 3. Contenido de L-met (mg/gramo) y L-trp (g/100 gramos) en la proteína soluble en extracto salino, en cuatro variedades de frijol. México. 1993.

Variedad	L-met	L-trp
Bayo Río Grande	0,120a	1,31 b
Canario 107	0,109 b	1,42 a
Jamapa	0,104 c	1,38 ab
BAT 104	0,101 d	1,17 c

Cada dato es el promedio de 20 y 16 muestras para la determinación de L-met y 16 en L-trp respectivamente. Los números con la misma letra no son diferentes entre sí (Tukey $\leq 0,05$).

+ L-cis al analizar 198 muestras de *P. vulgaris*. En el caso de L-trp, aunque también se observaron diferencias entre algunas de las variedades, estos datos no están relacionados aparentemente con el contenido de proteína.

Cabe hacer notar que el método descrito para la determinación de L-trp debido a su exactitud y reproductibilidad, ya ha sido empleado exitosamente con fines de selección varietal en los programas de mejoramiento de maíz. En el caso del análisis microbiológico, éste fue uno de los métodos empleados para el análisis de vitaminas y otros compuestos desde hace ya muchos años, y actualmente aún cuando existen otros procedimientos, consideramos que el método microbiológico sigue siendo de utilidad, dado que además de determinar la metionina biológicamente disponible:

- 1) se pueden analizar cientos de muestras simultáneamente
- 2) la determinación se efectúa en 16 a 18 horas
- 3) la sensibilidad del bioensayo permite detectar μg por ml del aminoácido
- 4) el volumen de muestra requerido es menor a 0,5 ml por determinación y
- 5) por la simplicidad y economía del procedimiento, los cuales son características que hacen de este método un instrumento que se ajusta a las necesidades de los programas de selección de cultivares con mayor calidad nutritiva.

CONCLUSIONES

El extracto salino fue adecuado para determinar los niveles de los aminoácidos L-met y L-trp en las cuatro variedades estudiadas.

Existieron diferencias en el contenido de proteína y en las características tecnológicas especialmente en cuanto al tamaño, tiempo de cocción y espesor del caldo. La variedad Bayo Río Grande mostró el mayor tiempo de cocción, lo cual coincide con un mayor contenido de testa.

La variedad BAT 104 mostró el mayor contenido de proteína (27,3 %) y la Bayo Río Grande el mínimo (23,3 %).

A pesar de que el rango de valores para contenido de L-met y L-trp fue estrecho, se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre las variedades.

Las variedades con mayores concentraciones de L-met fueron Bayo Río Grande y Canario 107 y de L-trp Canario 107 y Jamapa.

LITERATURA CITADA

- ELIAS, L.G.; GARCIA-SOTO, A.; BRESSANI, R. 1986. Métodos para establecer la calidad tecnológica y nutricional del frijol. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. (INCAP) Guatemala C.A. 41 p.
- EVANS, R. J. 1978. Methionine and cystine contents of beans *Phaseolus* seed. J. Agric. Food Chem. 26:1234-1237.
- GEPTS, P.; BLISS, F.A. 1984. Enhanced available methionine concentration associated with higher phaseolin level's in common bean seeds. Theoretical Applied Genetics 69(1):47- 53.
- HERNANDEZ, H.; BATES, L. 1969. A modified method for rapid tryptophan analysis in maize. CIMMYT. Res. Bull. No. 13.
- KELLY, K.F. 1971. Genetic variation in the methionine levels of mature seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris*) J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96:561-563.
- LARIS, D.J.; ORTEGA D, M.L.; TRINIDAD,S.A.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. 1991. Efecto de la fertilización con nitrógeno y azufre en el contenido de proteína y L-metionina de la semilla de frijol *Phaseolus vulgaris* L. Agrociencia Serie Fitociencia. 2(1):33-47.
- LARKINS, B.A. 1981. Seed storage proteins: characterization and biosynthesis *In*: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol 6. Proteins and nucleic acids. Academic Press. pp. 450-489.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- MENDOZA A, J.L.; CARRILLO-CASTAÑEDA, G. 1979. Determinación cuantitativa de aminoácidos para propósitos de selección en frijol. Fitotecnia 2: 73-81.
- MUTSCHLER, M.A.; BLISS, F.A. 1981. Inheritance of bean seed globulin content and its relationship to protein content and quality. Crop Sci. 21: 289-294.
- OSBORNE, T.R. 1985. The proteins of barley. J. Amer. Chem Soc. 17:539-567.
- OSBORNE, T.B. 1907. The protein of the wheat kernel. Carnegie Inst. Washington D.C. Pub. No. 84 .
- TECHNICON 1974. Manual Technicon Autoanalyzer II. Food Div. Technicon Inst. N.Y. 89 p.
- TULMAN, N.A.; KOO, F.K.S.; CUEVAS-RUIZ, J. 1978. Influence of plant competition and pod position on seed yield components and protein content in beans. J. Agric. Univ. P. Rico. 62: 186-190.