

# **EFFECTOS DE LA COCCION TRADICIONAL SOBRE LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES DE LOS FRIJOLES NEGROS (*Phaseolus vulgaris*) DE COSTA RICA**

*Ana Ruth Bonilla*<sup>1</sup>, *Cecilia Calzada*<sup>2</sup> y *Rodney Cooke*<sup>3</sup>

**Centro de Investigaciones en Tecnología de Alimentos  
(CITA),  
Universidad de Costa Rica,  
San José, Costa Rica**

## **RESUMEN**

En esta investigación se determinó la presencia de los inhibidores de tripsina, inhibidores de alfa amilasa y hemaglutininas en los frijoles negros (*P. vulgaris*) producidos en Costa Rica. Además, se estudió su comportamiento ante la cocción tradicional.

Los factores antinutricionales se determinaron por espectrofotometría en los frijoles crudos, y después de diferentes tiempos de cocción. Se observó que los inhibidores de alfa amilasa son los más termorresistentes, ya que a los 30 min de cocción existe un 33% de la actividad inicial presente en el frijol crudo. Alrededor del 80% de la actividad antitripsina ha desaparecido a los 9 min de cocción. En cuanto a las hemaglutininas, a los 10 min la actividad es aproximadamente sólo de 1%.

## **INTRODUCCION**

Para los habitantes de América Central, tanto en las zonas rurales como en el medio urbano, el frijol negro, al igual que otras leguminosas, aporta cantidades significativas de proteínas y calorías. Además del alto porcentaje de proteínas, las leguminosas poseen la cualidad de tener aminoácidos esenciales que completan el maíz, arroz y otros cereales, obteniéndose, como resultado, una mezcla de mejor calidad proteínica que la de los ingredientes

---

Manuscrito modificado recibido: 28-8-90.

- 1 CITA, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- 2 Laboratorio de Aduanas, Ministerio de Hacienda, Lorente de Tibás, San José, Costa Rica. Anteriormente asignada al CITA.
- 3 Overseas Development Natural Resources Institute (GIR), 52-62 Gray's Inn Road London WC1X 8LU, Gran Bretaña. En la época en que se llevó a cabo este trabajo, en el CITA.

individuales (1-3).

Pero, a pesar de que a través de la historia se ha conocido el alto valor nutritivo de las leguminosas, también se ha sabido que contienen ciertas sustancias que pueden ser consideradas "tóxicas" (4,5), ya que tienen efectos antinutricionales. Entre estos factores bioquímicamente activos, se encuentran los inhibidores de enzimas proteolíticas, inhibidores de alfa amilasa y hemaglutininas (4,6-8).

Ahora bien, el hecho de que tales factores antinutricionales pueden ser destruidos por el calor, ha hecho posible que las leguminosas se usen universalmente como un importante componente dietético (9-12).

Existen numerosos estudios sobre estos factores en relación a los frijoles de soya, y a diversas variedades de *P. vulgaris* (12-19). Ahora bien no existe información acerca de los diferentes factores antinutricionales en los frijoles negros (*P. vulgaris*) consumidos en Costa Rica.

En esta investigación se determinó, por lo tanto, la presencia de los inhibidores de tripsina, inhibidores de alfa amilasa y hemaglutininas en los frijoles negros (*P. vulgaris*) producidos en Costa Rica. Asimismo, se estudió su comportamiento ante la cocción tradicional concluyéndose que los inhibidores de alfa amilasa son los más termorresistentes.

## MATERIAL Y METODOS

Se usaron semillas de frijoles negros, *P. vulgaris* de cosecha reciente, recogidos en finca de la zona de La Cruz, en el cantón de Acosta, provincia de San José, Costa Rica.

Como punto de partida se determinó la presencia de los tres factores antinutricionales citados en los frijoles crudos.

De acuerdo a la actividad observada, la cantidad de muestra utilizada en cada método se ajustó para reducir al mínimo el error del análisis. Todas las determinaciones se efectuaron por duplicado y se expresan en base seca.

Los inhibidores de tripsina fueron analizados por el método propuesto por Kakade *et al.* (15) para frijoles de soya. Con el fin de obtener una óptima extracción de la actividad del inhibidor de la tripsina se sometieron a ensayo varias condiciones, y se adoptó la siguiente modificación en la preparación de la muestra. Se pesaron 4 g de muestra y se extrajeron con 200 ml de NaOH 0.01M en una licuadora, durante cuatro minutos, a intervalos de dos minutos con un minuto de descanso. El pH se mantuvo entre 8.4 y 10.0 (9.5 promedio). Se preparó una dilución de 1:25 en solución de NaOH 0.001M.

La actividad de los inhibidores de alfa-amilasa se midió a través del ensayo espectrofotométrico descrito por Marshall y Lauda (20), que utiliza alfa amilasa porcina.

La actividad de las hemaglutininas se determinó por medio de sistema propuesto por Liener (21). En él se mide la reflectancia de una suspensión de glóbulos rojos de conejo tripsinados a través de una absorbancia aparente a 620nm.

Los frijoles, sin hidratación previa, se sometieron al siguiente tratamiento térmico. En una olla de acero de fondo plano se llevó a ebullición 144 ml de agua, y se agregaron 40 g de frijol (tiempo cero), el cual se cocinó sin tapar por los minutos prefijados. Al tiempo final se vació todo el contenido de

la olla en tres tamices para separar los frijoles completamente del líquido de cocción. Se pasaron los mismos a sendos beakers enfriados en el congelador y sumergidos en agua de hielo. Se agitó continuamente hasta enfriamiento total. Las muestras se almacenaron congeladas hasta el momento del análisis.

Durante la cocción y el enfriamiento se determinó la temperatura mediante la colocación de tres termopares de punta fina, situados en sendos frijoles y conectados a un teletermómetro de EDALE previamente calibrado. Se perforaron previamente los frijoles. Se hicieron anotaciones de tiempo y temperatura desde el inicio del tratamiento hasta el enfriamiento cercano a los 0°C.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Presencia de los Factores Antinutricionales en los Frijoles Crudos*

#### *Inhibidores de tripsina*

Se puede observar, en la Figura 1, que hay una respuesta lineal entre la cantidad de frijol crudo y el porcentaje de inhibición de la tripsina, hasta un 50% de inhibición. Por consiguiente, hay que diluir los extractos de frijol hasta la obtención de actividades en ese ámbito, lo que se logró con una concentración de 800 ppm de frijoles en la disolución para analizar. En el caso de la soya, Kakade (15) afirma que la respuesta es lineal hasta 40-60% de inhibición de tripsina.

#### *Inhibidores de alfa amilasa*

La relación del % de inhibición con la cantidad de frijol es lineal hasta aproximadamente 50% de inhibición de alfa-amilasa (Figura 2). Esto concuerda con la recomendación de Marshall y Lauda, (20), que establece para los parámetros del ensayo que la cantidad de inhibidor debe ser tal que inhiba como máximo el 50% de la actividad de la enzima.

#### *Hemaglutininas*

La relación que existe entre la absorbancia de la suspensión de eritrocitos a los 150 min de ensayo con la concentración (inverso de la dilución) del extracto de frijoles crudos, se muestra en la Figura 3. Esta forma sigmoidal es característica de este tipo de sistema (Liener) (21). Se seleccionó una concentración de frijol crudo de 1/64 en la porción recta de la curva, que corresponde a un relación directa entre absorbancia-concentración.

### *Efecto del Tratamiento Térmico sobre los Factores Antinutricionales*

Las temperaturas de cocción y enfriamiento se pueden observar en la Figura 4.

La Figura 5 es una interpretación de tendencias observadas tratando de dar igual validez a todas las mediciones hechas. El 100% de actividad en cada

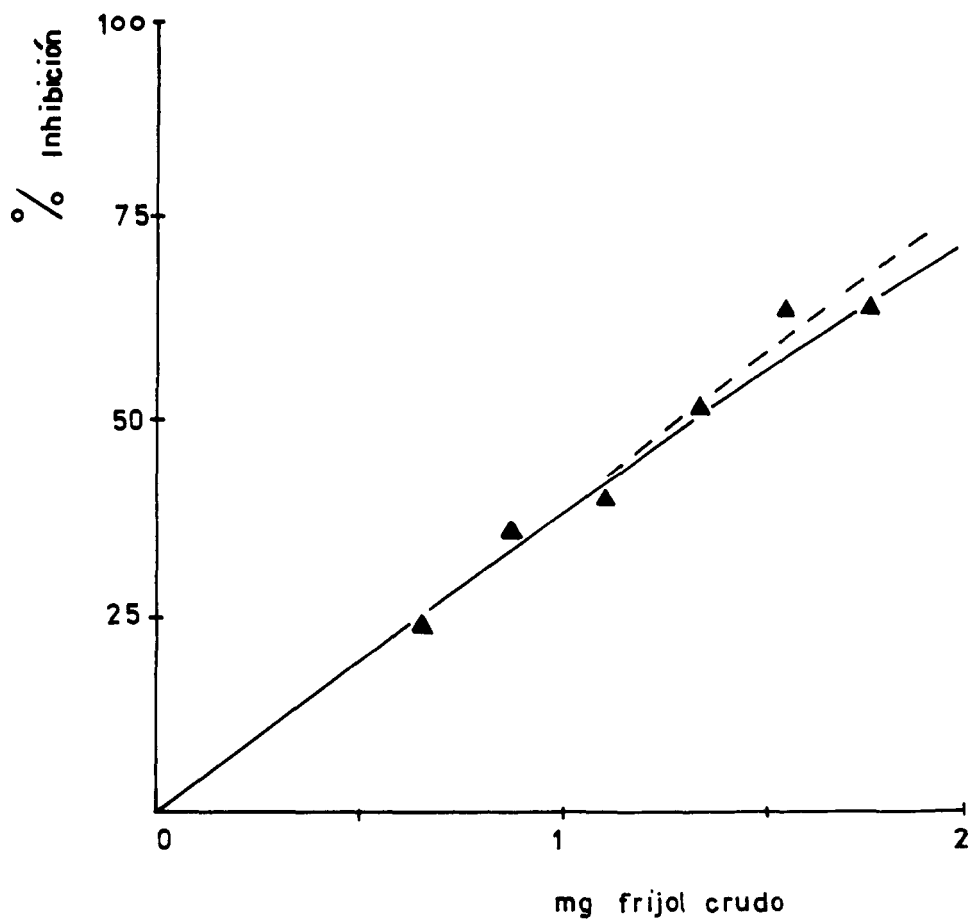
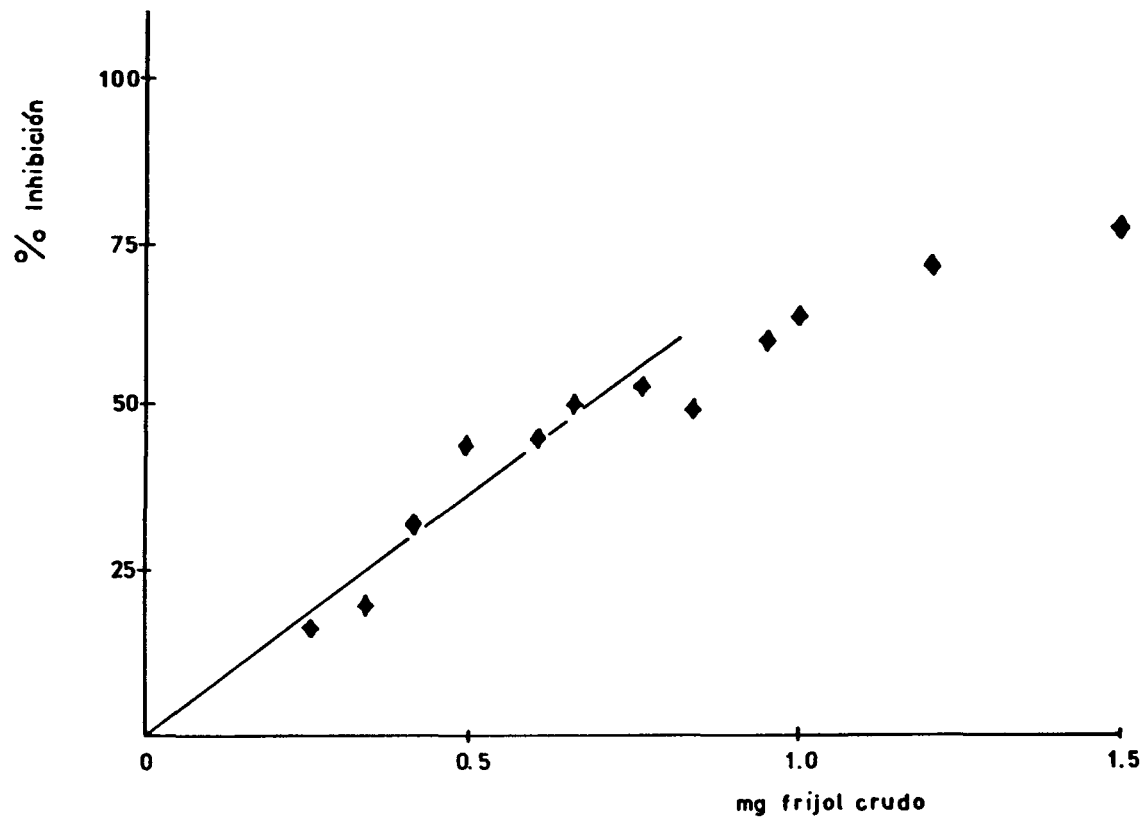


FIGURA 1

Relación entre la inhibición de tripsina y la cantidad de frijol crudo



**FIGURA 2**

**Relación entre la inhibición de alfa-amilasa y la cantidad de frijol crudo**

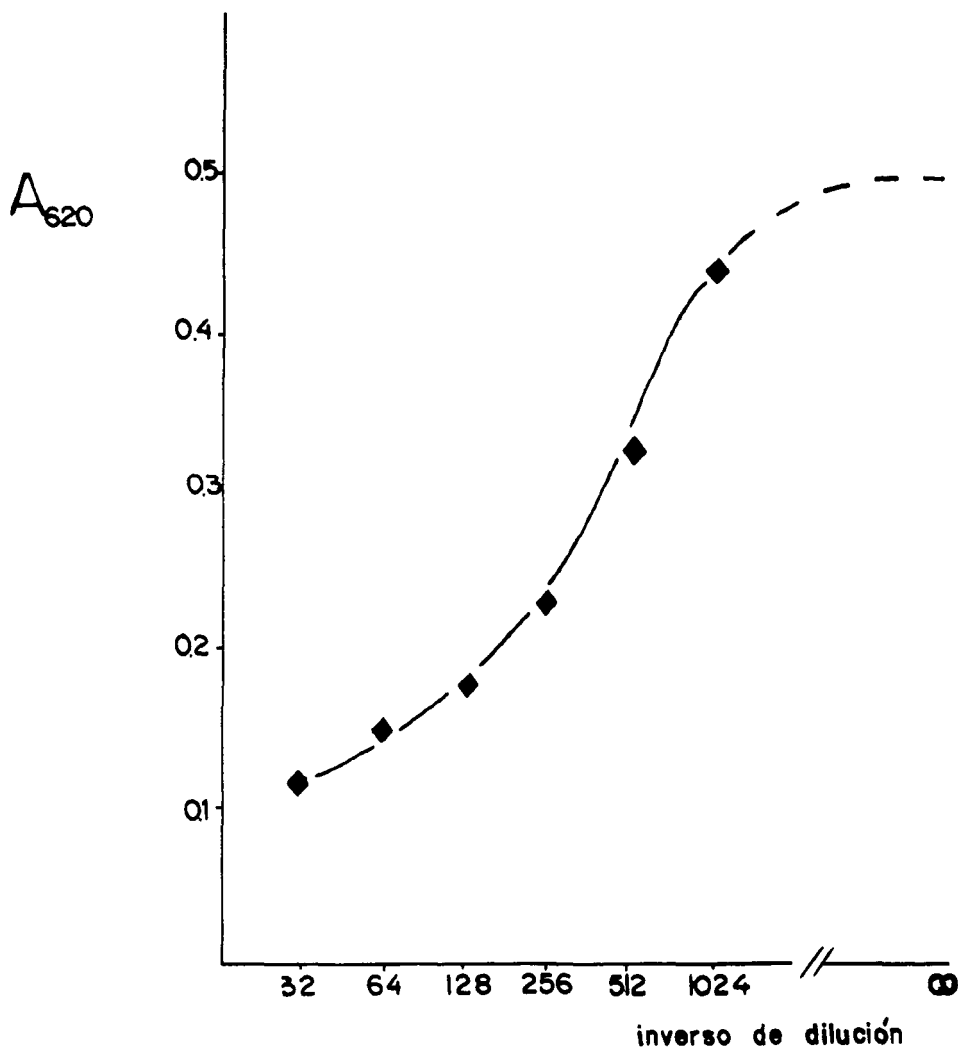


FIGURA 3

Relación entre la absorbancia de una suspensión de eritrocitos a los 150 minutos de ensayo y la cantidad de frijol crudo

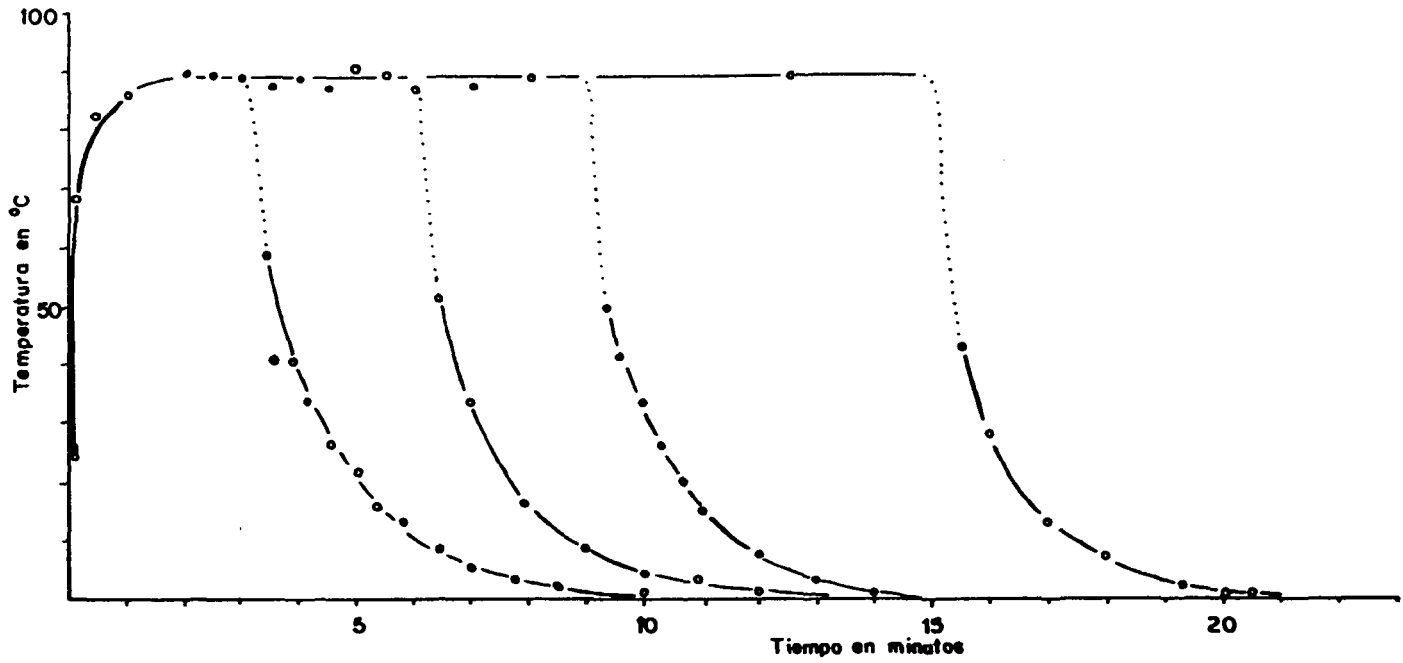


FIGURA 4

Cocción de frijoles negros en agua hirviendo  
Curvas de calentamiento y enfriamiento

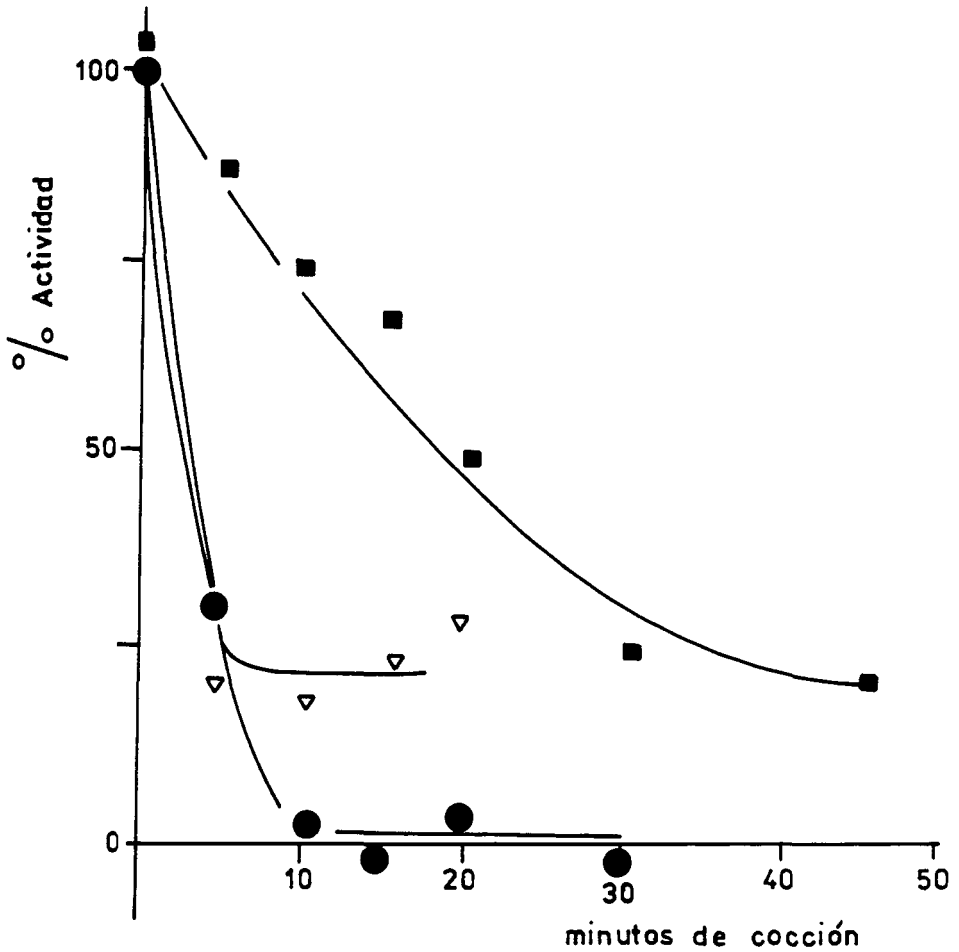


FIGURA 5

Inhibidores nutricionales:  
 ■ de alfa-amilasa    ▽ de tripsina y  
 ● hemagglutininas durante la cocción tradicional de  
 frijoles negros

caso, corresponde a la actividad encontrada en un patrón de frijol crudo analizado simultáneamente, que se toma como punto de referencia para el cálculo de la actividad correspondiente. Todos los resultados fueron calculados en base seca.

Según se puede apreciar, alrededor del 80% de la actividad antitripsina ha desaparecido a los nueve minutos de cocción. Después de este tiempo la actividad es más constante. Es muy probable que la actividad residual que se observa se relacione con la presencia de inhibidores de naturaleza no proteínica, probablemente taninos y compuestos polifenólicos, que no tienen una acción antienzimática específica, y son capaces de inhibir varias enzimas diferentes (22). Elías, Fernández y Bressani (23), en un estudio de frijoles de varios colores, han informado resultados semejantes, indicando que estas sustancias tienen actividad antitripsina termorresistente.

Los inhibidores de alfa amilasa son mucho más estables al efecto que la cocción ejerce sobre ellos que los inhibidores de tripsina. Como lo indica la misma Figura 5, a los cinco minutos de cocción los inhibidores de alfa amilasa solo se reducen 10%, y a los 30 minutos de cocción existe alrededor de 1/3 de la actividad inicial del frijol crudo.

En cuanto a la actividad residual de las hemagglutininas frente al tiempo de cocción, se aprecia que a los cinco minutos hay una actividad de aproximadamente 30%, en tanto que a los 10 minutos la actividad es aproximadamente sólo del 1%.

## CONCLUSION

El inhibidor de alfa amilasa es mucho más estable que los inhibidores de tripsina y hemagglutininas en el sistema de cocción tradicional sin hidratación previa. En cuanto a los otros dos inhibidores, la cinética de destrucción es muy parecida.

## SUMMARY

### EFFECT OF TRADITIONAL COOKING OF THE ANTINUTRITIONAL FACTORS PRESENT IN BLACK BEANS (*Phaseolus vulgaris*) OF COSTA RICA

Trypsin inhibitors, alfa amylase inhibitors and hemagglutinins were determined in black beans (*P. vulgaris*) produced in Costa Rica. The effect of the traditional cooking on such antinutritional factors was also studied.

The antinutritional factors were analyzed spectrophotometrically in the raw beans, as well as after several cooking periods of time.

The results showed that alfa-amylase inhibitors were the most thermorresistant. After 30 min of cooking time there was a 33% of activity left from the initial activity of the raw beans. Approximately 80% of the antitryptic activity was destroyed at 9 min of cooking time. After 10 min of cooking time, only 1% of hemagglutinin activity was present.

## BIBLIOGRAFIA

1. Bressani R., L.G. Elías & D.A. Navarrete Nutritive value of Central American beans. *J. Food Sci.*, **26**: 525-528, 1961.
2. Molina M. R., G. de la Fuente & R. Bressani. Interrelaciones entre tiempo de remojo, tiempo de cocción, valor nutritivo y otras características del frijol (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Latinoamer. Nutr.*, **24** (4): 469-483, 1974.
3. Kás, J., L. Fukal, E. Kasfirek, M. Cap & J. Solc. Assay of trypsin inhibitor and its application to the evaluation of thermally treated horse bean/vicia faba. *Scientific Papers. Prague Inst. Chem Technol. E.*, **56**: 176-193, 1983.
4. Liener, I.E. Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am. J. Clin. Nutr.*, **11**: 281-290, 1962.
5. Liener, I.E. Protease inhibitors and hemagglutinins of legumes. In: *Evaluation of Proteins for Humans*. Bodwell (Ed.) Westport Co., The AVI Publishing Co., 1977, p. 284-303.
6. Bowman, D. Amylase inhibitor of navy beans. *Science*, **102**: 358-359, 1945.
7. Vinh, L.T. & Dworschak. Trypsin and chymotrypsin inhibitor activities in plant foods from Vietnam and Hungary. *Die Nahrung* **30**: 53-58, 1986.
8. Jaffé, W., R. Moreno & V. Wallis. Amylase inhibitors in legume seeds. *Nutr. Reps. Internat.*, **7**: 169-174, 1973.
9. Jaffé, W. & C.I. Vega Letle. Heat-labile growth-inhibiting factors in beans. (*Phaseolus vulgaris*) *J. Nutr.*, **94**: 203-210, 1968.
10. Liener, I.E! Legume toxins in relation to protein digestibility. A review *J. Food. Sci.*, **41**: 1076-1081, 1976.
11. Turner, R. H. & I.E. Liener. The effect of the selective removal of hemagglutinins on the nutritive value of soybeans. *J. Agric. Food Chem.*, **23**: 484-487, 1975.
12. Di Pietro, C.M. & I.E. Liener. Soybean protease inhibitors in foods. *J. Food Sci.* **54**: 606-609, 1989.
13. Stein, M. Natural toxicants in selected leguminous seeds with special reference to their metabolism and behavior on cooking and processing. *Qual. Plant. Plant Fds. Hum. Nutr.*, **26**: 227-237, 1976.
14. Cheftel, J.C. Proteins and amino acids. In: *Nutritional and Safety Aspects of Food Processing*. Tannenbaum (Ed.) New York, N.Y., Marcel Dekker, Inc., 1979, p. 153-215.
15. Kakade, M.L., J.J. Rackis, J.E. Mc Ghee & G. Puski. Determination of trypsin inhibitor activity of Soy products: A. collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, **51**: 376-382, 1974.
16. Jaffé, W. & K. Hannins. Fractionation of proteins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Bioch. Biophys.*; **109**: 80-91, 1965.
17. Liener, I.E. Phytohemagglutins: Their nutritional significance. *J. Agr. Food Chem.*, **22**: 17-20, 1974.
18. Lowgren, M. & I. Liener. The effect of slow cooking on the trypsin inhibitor and hemagglutinating activities and in vitro digestibility of brown beans (*Phaseolus vulgaris*) var. Stella and kidney beans. (*Phaseolus vulgaris*) var. Montcalm. *Qual. Plant. Plant Foods Human Nutr.*, **36**: 147-154, 1986.
19. Hamza, M.A., A.M. Shenata & H. Stegemann. Studies on L-amylase and trypsin inhibitors in legume seeds using agar diffusion and isoelectric focusing techniques. *Qual. Plant. Plant. Foods Nutr.*, **36**: 139-146, 1986.
20. Marshall, J.J. & C.M. Lauda. Purification and properties of phaseolamin, an inhibitor of L-amylase from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. *J. Biol. Chem.*, **250**: 8030-8037, 1975.

21. Liener, I. E. The photometric determination of the hemagglutinating activity of soyin and crude soybean extracts. *Arch. Biochem. Biophys.*, 54: 223-230, 1955.
22. Marshall, J.J. Alfa- amylase inhibitors from plants. *Am. Chem. Soc Symposium Series*, 15: 244-266. 1965.
23. Elías, L. G., D.G. Fernández & R. Bressani. Possible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein. *J. Food Sol.*, 44: 524-528. 1979.