

**EFFECTO DE DIVERSOS TRATAMIENTOS TERMICOS
EN EL CONTENIDO DE HEMAGLUTININAS
Y EN LA CALIDAD PROTEICA DEL FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris*)**

Nelly Pak,¹ Argentina Mateluna¹ y Héctor Araya¹

Facultad de Medicina Santiago Norte, Universidad de Chile,
Santiago, Chile

RESUMEN

Se evaluó el rol que juega el remojo previo al tratamiento térmico en la detoxificación del frijol y en la calidad biológica de la proteína. Para ello se determinó en semillas enteras de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad "tór-tola", crudas y sometidas a ebullición durante 60', 90', y 120' sin y con remojo previo de más o menos 14 horas, la utilización proteica neta (NPU) al 10⁰/o P, la digestibilidad verdadera de la proteína y el título de hemaglutinación utilizando glóbulos rojos de vaca tripsinados.

Se concluyó que el remojo previo a la cocción no es indispensable para eliminar la toxicidad del frijol; en cambio, sí es necesario para el ablandamiento de las semillas y, por lo tanto, las condiciones de cocción son menos drásticas.

Asimismo, se analizó por medio del nivel de hemaglutinación, la toxicidad de 6 muestras de harinas comerciales, indicando los resultados que gran parte de ellas son tóxicas.

Por último se evaluaron los procedimientos culinarios para determinar

Recibido: 25-4-77

1. Miembros del Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina Santiago Norte, Universidad de Chile.

si son adecuados o no para harinas de frijol en cuanto a destrucción de factores tóxicos, utilizando para ello dos harinas obtenidas por molienda de frijol crudo, variedades "burro" y "tortola". Se prepararon, con cada harina, papillas con consistencia de sopa y puré (al 10% y 20%) empleando diferentes tiempos de cocción (ebullición, 5', 10', 15' y 30'). Las dos variedades de frijol en estado crudo contenían altos niveles de hemaglutininas que se inactivan con cocción a ebullición durante 10 minutos en concentración al 10%; en cambio, al 20% la presencia de este tóxico persistía aún después de 15' de calentamiento. No se detectó a los 30' de cocción.

INTRODUCCION

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) constituye una importante fuente de proteínas y calorías en la dieta de muchos países de Latino América (1). Sin embargo, en estado crudo contiene una gran cantidad de factores antinutricionales que, ingeridos por animales de experimentación, afectan en forma adversa su crecimiento llegando incluso a producirles la muerte (2-4). Diversos autores han demostrado que algunos tipos de hemaglutinina son los principales factores responsables de esta acción tóxica (5-7). Algunas de estas sustancias tales como las hemaglutininas y el factor antitriptico, son termolábiles (8). No obstante, el grado de incremento en el valor nutricional por acción del calor depende de la temperatura y del tiempo de calentamiento empleado, así como de las condiciones de humedad de la muestra. Una cocción insuficiente deja sustancias tóxicas presentes, mientras que un calentamiento en exceso puede resultar en una reducción del valor nutritivo de la proteína, debida a cambios en el contenido de aminoácidos esenciales del frijol (9).

En los trabajos relacionados a cocción, valor nutritivo y toxicidad del frijol, el tipo de tratamiento térmico usado varía significativamente de un autor a otro y en condiciones que no siempre simulan los procedimientos de cocción de los países en desarrollo que utilizan olla abierta (10). En general, son diversas las variables que se consideran: uso o no de remojo previo y tiempo empleado en ello; temperatura y duración de la cocción; estado de la semilla (entera o molida); tipo de cocción (olla común, estufa, autoclave); relación sólido-líquido; estado de maduración, y tiempo de almacenamiento de la semilla (2-4, 6, 9-14).

Cabe hacer notar que existe controversia en relación a la necesidad del remojo previo a la cocción para la destrucción total

de tóxicos durante el proceso de calentamiento (2,8,15-17). Además, no hay seguridad de que en los procesos culinarios habituales se logre una inactivación total de los mismos, especialmente si se trata de materiales que se cocinan en un tiempo muchísimo menor (harinas).

En Chile se consume el frijol durante todo el año, preferentemente como grano seco y en forma de variados guisos. El método de preparación habitual consiste en hervirlo a presión atmosférica hasta lograr el ablandamiento del grano (generalmente de 1:30 a 2 hr previo remojo durante la noche). Además se utilizan las harinas de frijol obtenidas por procesos tecnológicos para la preparación de sopas y purés que requieren períodos cortos de calentamiento después de preparados.

Con base en los antecedentes expuestos, consideramos necesario:

1. Evaluar el rol que juega el remojo previo al tratamiento térmico en la detoxificación del frijol y en la calidad biológica de la proteína, utilizando diferentes tiempos de cocción.
2. Analizar la toxicidad de harinas comerciales de frijol.
3. Evaluar si los procedimientos culinarios habituales son adecuados para el frijol seco entero y harinas de frijol en lo que a destrucción de factores tóxicos concierne.

Como indicador de toxicidad se empleó el título de hemaglutinación utilizando glóbulos rojos de vaca tripsinados, ya que se ha demostrado que es útil para detectar variedades tóxicas y para establecer el grado de destrucción del factor tóxico por el calor (18). Se midió la utilización proteica neta como reflejo de la calidad proteica y en algunos casos, la digestibilidad verdadera de la proteína.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron los siguientes materiales:

1. Frijoles enteros secos (*Phaseolus vulgaris*) variedad "tortola", crudos y sometidos a cocción por ebullición, en olla corriente, a 60', 90' y 120' con o sin remojo previo de más o menos 14 horas, secado en corriente de aire a temperatura ambiente y luego molidos para su análisis químico y biológico.

Se determinó en todas las muestras el título de hemaglutinación por la técnica de Jaffé y Brücher (5), la calidad biológica

de la proteína aplicando el método de utilización proteica neta (NPU) al 10% de las calorías proteicas en experimentos de 10 días, usando en cada ensayo 8 ratas albinas de nuestra colonia, de ambos sexos y de 31 días de edad (19), y la digestibilidad verdadera de la proteína de acuerdo con la fórmula usada por Bender (20).

2. a) *Harinas de frijol comercial*

Se analizaron seis muestras de harinas de frijol adquiridas en el comercio, excepto la muestra No. 1 que corresponde a una partida que produjo hace algunos años intoxicación masiva con cuadros de diarrea y vómitos, en un grupo grande de niños de una escuela de Santiago. Las harinas Nos. 1 a 4 correspondían a producto tostado, y la 5 y 6 recibieron tratamiento térmico por vía húmeda. Se determinó en todas ellas el título de hemaglutinación; además, en las muestras 3, 4 y 6 se desarrolló la prueba biológica del NPU.

b) *Sopas y purés*

Se utilizaron dos harinas obtenidas en el laboratorio por molienda de frijol crudo, variedad "tortola" y "burro", respectivamente.

Con cada harina se prepararon papillas con consistencia de sopas y purés (10% y 20% de concentración). El método culinario seguido consistió en agregar harina a la cuarta parte de la cantidad de agua calculada, a una temperatura de $\pm 50^{\circ}\text{C}$, agitar y completar el volumen requerido. Luego se sometieron a cocción empleando diferentes tiempos de ebullición (5', 10', 15' y 30') y se restauró el agua evaporada para mantener la concentración especificada.

Se confeccionaron 250 g de cada preparación, las que posteriormente fueron liofilizadas. Se determinó en todas ellas el título de hemaglutinación.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se detallan la calidad proteica medida como

utilización proteica neta al 10% de las calorías proteicas, la digestibilidad verdadera de la proteína y el título de hemaglutinación de semillas enteras de frijol (*Phaseolus vulgaris*) variedad "tortola", crudas y sometidas a ebullición durante 60', 90' y 120' sin remojo previo, y a los mismos tiempos de calentamiento pero con remojo anterior de más o menos 14 horas.

TABLA 1

SEMILLAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*) VARIEDAD "TORTOLA", SOMETIDAS A DIVERSOS TRATAMIENTOS TERMICOS. DETERMINACION DE UTILIZACION PROTEICA NETA (NPU),* DIGESTIBILIDAD VERDADERA DE LA PROTEINA (D) Y TITULO DE HEMAGLUTINACION**

	NPU	D	Título de hemaglutinación
Crudo	Mortandad 8/8	—	16
a) Sin remojo previo			
Tiempo de ebullición:			
60'	39.0	66.1	4
90'	41.6	75.7	0
120'	42.8	73.0	0
b) Con remojo previo más o menos 14 horas			
Tiempo de ebullición:			
60'	40.3	76.5	1
90'	45.5	78.6	0
120'	43.4	77.8	0

* Al 10% de las calorías proteicas.

** Ultima dilución en que es visible la reacción de hemaglutinación.

La actividad hemaglutinante que presentó la semilla cruda fue alta, observándose mortandad de las ratas alimentadas con dietas al 10⁰/o de las calorías proteicas. Sin remojo previo, la cocción por ebullición durante 60' no anuló la actividad hemaglutinante, presentando una baja digestibilidad (66.1) y una utilización proteica neta (NPU) de 39.0. Al incrementar el tiempo de calentamiento a 90' aumentó la digestibilidad (75.7), la calidad proteica fue similar, y desapareció la aglutinación de glóbulos rojos de vaca tripsinados. Empleando 120' de cocción se mantuvieron la digestibilidad y calidad proteica. Con remojo previo de más o menos 14 horas, el calentamiento de 60' dejó un contenido mínimo de hemaglutininas. La digestibilidad no se alteró con los distintos tiempos de calentamiento y la calidad proteica alcanzó su mejor valor con 90' de cocción.

En la Tabla 2 se indica el título de hemaglutinación de las harinas de frijol. De las 6 muestras analizadas, sólo una presentó ausencia de actividad hemaglutinante (No. 6), resaltando el alto valor encontrado en las muestras Nos. 1, 2 y 3. En la misma Tabla se ilustra el resultado de las pruebas experimentales de NPU realizadas en las muestras Nos. 3, 4 y 6. Con la harina comercial No. 3 diluída al 10⁰/o de las calorías proteicas, murieron todas las ratas del ensayo (ocho en total). Cabe suponer que se obten-

TABLA 2

TITULO DE HEMAGLUTINACION Y UTILIZACION PROTEICA
NETA (NPU) DE HARINAS DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*)
COMERCIALES

Harinas de frijol No.	Título de hemaglutinación*	NPU**
1	13	—
2	12	—
3	11	Mortandad 8/8
4	7	23.9
5	5	—
6	0	32.7

* Ultima dilución en que es visible la reacción de hemaglutinación.

** Al 10⁰/o de las calorías proteicas.

drían iguales resultados en animales alimentados con las muestras 1 y 2 que presentan valores semejantes de hemaglutininas.

Las harinas Nos. 4 y 6 presentaron una calidad biológica —medida como NPU— de 23.9 y 32.7, respectivamente, o sea inferiores a lo comunicado para el frijol cocido en forma habitual (3).

En la Tabla 3 se muestra el título de hemaglutinación de las harinas de dos variedades de semillas de frijol, crudas y sometidas a cocción por ebullición durante 5', 10', 15' y 30', en concentraciones al 10^o/o y 20^o/o (sopas y purés). Las dos variedades de frijol en estado crudo contienen altos niveles de hemaglutininas que se inactivan al calentar 10' a ebullición en concentraciones al 10^o/o, pero con una relación sólido-líquido de 1:4; la presencia de este

TABLA 3

**TITULO DE HEMAGLUTINACION DE HARINAS DE DOS
VARIETADES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris*) CRUDAS Y SOMETIDAS
A COCCION POR EBULLICION AL 10 Y 20^o/o DE CONCENTRACION
EN DIFERENTES TIEMPOS***

	Frijol var. "burros"	Frijol var. "tortola"
Crudos	11	13
<i>Tratamiento térmico</i>		
a) Concentración 10 ^o /o		
Tiempo de ebullición:		
5'	1	1
10'	0	0
15'	0	0
30'	0	0
b) Concentración 20 ^o /o		
Tiempo de ebullición:		
5'	4	5
10'	3	3
15'	1	1
30'	0	0

* Última dilución en que es visible la reacción de hemaglutinación.

tóxico persiste aún después de 15' de calentamiento. No se detectó actividad hemaglutinante a los 30' de cocción.

DISCUSION

Según nuestros resultados, el método habitual de cocción por ebullición en olla abierta, previo remojo de la semilla cruda de frijol, sería adecuado en cuanto a eliminar la acción tóxica y salvaguardar la calidad de la semilla. Un calentamiento de 90' sería suficiente para la destrucción total de la actividad hemaglutinante. No obstante, habría que considerar tiempos de calentamiento más prolongados para el ablandamiento de las semillas de cosechas antiguas, lo que probablemente redundaría en una menor utilización de la proteína.

El remojo previo tendría como objetivo acelerar la inactivación de las hemaglutininas por acción del calor, probablemente por ablandamiento de la pared celular. Tal vez esta misma explicación pueda ser válida para explicar en parte los resultados de un trabajo de Molina, de la Fuente y Bressani (13) quienes demostraron que en el frijol recién cosechado y por lo tanto más fácilmente hidratable, los tiempos de cocción óptimos fueron de 10' en autoclave a 121°C, con 0,8, 10 ó 24 horas de remojo; en contraste, en el frijol almacenado durante 3 meses las muestras no sometidas a remojo se vieron favorecidas por un tiempo de cocción de 20' a 30', mientras que las sujetas a remojo necesitaron sólo 10'. Tiempos de cocción más prolongado afectaron la calidad proteica, a diferencia de nuestros resultados, lo que puede deberse a la distinta temperatura empleada.

Un trabajo reciente (21) utilizando frijol tierno con 60% de humedad demostró también un menor tiempo de cocción (30' ebullición en olla abierta) para eliminar el contenido de hemaglutininas.

El remojo, según el presente trabajo, no sería indispensable para eliminar la toxicidad del frijol, pero sí es necesario para el ablandamiento de las semillas y, por consiguiente, las condiciones de cocción son menos drásticas. Estos resultados concuerdan con lo observado por Kakade y Evans (17) y por Contreras y Tagle (22) de que el remojo menor de un día como único tratamiento, no disminuyó el tenor de hemaglutininas del frijol crudo. Sin embargo, no coincidimos con las conclusiones de este último trabajo (22) que indican que los tratamientos en olla común, previo

remojo, no son los mejores para destruir el poder hemaglutinante del frijol.

Otra forma de consumo del frijol es el empleo de harinas obtenidas por diferentes procesos de elaboración. La actividad hemaglutinante de las harinas de frijol comercial indica que gran parte de ellas son tóxicas, lo que se explica por su método de elaboración (calentamiento en medio seco). Existe evidencia en la literatura indicativa de que el calor en medio seco es inadecuado para eliminar la toxicidad del producto (23).

Los datos de NPU de las harinas de frijol Nos. 4 y 6 dan valores bajos en relación al frijol cocido en forma natural, lo que puede deberse, en el primer caso a la presencia de hemaglutininas, pero el segundo, con 0 actividad hemaglutinante, sólo puede explicarse por daño térmico de la proteína durante el proceso tecnológico.

La preparación culinaria utilizando harinas de frijol reviste riesgos si se utilizan materias primas con alto contenido de hemaglutininas, unido a cocción rápida en el hogar. La forma en que se consumen estas harinas es como sopas y purés, empleando un tiempo de cocción corto. En la Tabla 3, se muestra que en la preparación con consistencia de puré (20⁰/o) una ebullición de 10' no basta para eliminar la toxicidad. Calentamientos más prolongados evidentemente anularán la acción tóxica, pero tales procedimientos son poco prácticos, requieren una agitación continua para evitar que se queme el fondo, y el grado de temperatura puede no ser uniforme si no se acompaña de una buena homogenización en la preparación, con riesgo de persistencia en la toxicidad. Esto es especialmente cierto cuando se preparan cantidades grandes de guiso. Ejemplo de ello lo constituye la muestra No. 1 que provocó intoxicación masiva a niños de una escuela de Santiago (24).

Las preparaciones con consistencia de sopas (10⁰/o) requieren menor tiempo para eliminar la acción tóxica y demandan también menos dedicación en cuanto a cuidados en su preparación. Se podría recomendar un tiempo de cocción más prolongado (30') para asegurar la inocuidad del producto.

Korte (25) ha observado, en Africa, que cuando se utilizan mezclas de harinas de frijoles y cereales en programas de nutrición infantil y éstas se preparan bajo las condiciones prevalentes en la zona, las hemaglutininas tóxicas no siempre se destruyen. Esto fue probado por el test de aglutininas y por observaciones de cuadros de vómitos, diarreas y otros signos clínicos que presenta la población al ingerir este tipo de preparación.

A la luz de estos datos, creemos que no deben prepararse guisos con consistencia de purés, utilizando harinas crudas o precocidas que contengan actividad hemaglutinante.

SUMMARY

EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF HEAT TREATMENT ON THE HEMAGGLUTININ CONTENT AND PROTEIN QUALITY OF BEANS (*Phaseolus vulgaris*)

The effect of pre-soaking raw seed beans upon detoxification and the biological quality of its protein were evaluated. In whole raw seed beans (*Phaseolus vulgaris*) var. "tortola", the net protein utilization (NPU), true digestibility and hemagglutinin titer were determined after 60', 90' and 120' of heat treatment, with and without 14 hours of pre-soaking.

It is concluded that soaking prior to cooking is not necessary to eliminate the toxicity of dry beans, but that it does contribute to the softening of seeds and reduction of cooking time.

The hemagglutinin levels of six commercial bean flours were evaluated, concluding that almost all of them presented toxic levels.

The effect of the cooking methods upon the toxicity of bean flours was studied. Two raw bean flours, var. "tortola" and "burro" at 10% and 20%, were cooked employing different boiling times (5, 10, 15 and 30'). The two raw samples contained high hemagglutinin levels which were inactivated at 10% with 10' cooking. The presence of toxic levels was detected at 20% after 15' cooking and these were eliminated at 30' of cooking.

BIBLIOGRAFIA

1. Jaffé, W.G. Las semillas de leguminosas como fuentes de proteína en América Latina. En: Recursos Proteínicos en América Latina. (Capítulo III). M. Béhar y R. Bressani (Eds.). Memorias de una Conferencia de nivel latinoamericano, celebrada en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), ciudad de Guatemala, del 24 al 27 de febrero de 1970. Guatemala, C. A., Talleres Gráficos del INCAP, agosto de 1971, p. 228-241.
2. Hintz, H. F., D. E. Hogue & L. Krook. Toxicity of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in the rat. J. Nutr., 93:77, 1967.
3. Pak, N. & I. Barja. Valor nutritivo de cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*) cultivadas en Chile. Análisis comparativo con legumi-

- nosas de importancia en la alimentación chilena. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 23:495, 1973.
4. Jaffé, W.G. & C.L. Vega. Heat-labile growth-inhibiting factors in beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Nutr.*, 94:203, 1968.
 5. Jaffé, W. G. & O. Brücher. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 22:267, 1972.
 6. de Muelenaere, J. H. Toxicity and haemagglutinating activity of legumes. *Nature*, 22:827, 1965.
 7. Jaffé, W. G. Factores tóxicos en leguminosas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 18:205, 1968.
 8. Liener, I. Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am. J. Clin. Nutr.*, 11:281, 1972.
 9. Gómez, R., L. Elías, M. R. Molina, G. de la Fuente & R. Bressani. Changes in chemical composition and nutritive value of common beans and other legumes during house cooking. In: *Nutritional Aspects of Common Beans and Other Legume Seeds as Animal and Human Foods*. W. G. Jaffé (Ed.). Proceedings of a Meeting held in Ribeirao Preto, November 6-9, 1973. Caracas, Venezuela, Editorial Excelsior, No. especial de Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 1976, p. 93-108.
 10. **Upgrading Human Nutrition Through the Improvement of Food Legumes.** Protein Advisory Group of the United Nations System (PAG Statement No. 22).
 11. Contreras, S., H. Araya, N. Pak & M. A. Tagle. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. I. Glucósidos cianogénicos. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 23:251, 1973.
 12. Jaffé, W.G. & M.E. Flores. La cocción de frijoles. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 25:79, 1975.
 13. Molina, 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.*, 24:469, 1976.
 14. Jaffé W. G., I. González & M.C. Mondragón. Composición de caldos de frijoles. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 26:75, 1976.
 15. Jaffé, W. G. Toxicity of raw kidney beans. *Experientia*, 5:81, 1949.
 16. Honavar, P. M., C. V. Shih & I. E. Liener. Inhibition of the growth of rats by purified hemagglutinin fractions isolated from *Phaseolus vulgaris*. *J. Nutr.*, 77:109, 1962.
 17. Kakade, M. C. & R. J. Evans. Effect of soaking and germinating on the nutritive value of navy beans. *J. Food Sci.*, 31:781, 1966.
 18. Jaffé, W.G. Factors affecting the nutritional value of beans. In: **Nutritional Improvement of Food Legumes by Breeding.** Protein Advisory Group of the United Nations System, 1973.
 19. Miller, D. & A. E. Bender. The determination of the net protein utilization by a shortened method. *Brit. J. Nutr.*, 9:382, 1955.
 20. Bender, A. E. Biological methods of evaluating protein quality. *Proc. Nutr. Soc.*, 17:85, 1958.

21. Pak, N., H. Araya & C. Cafati. Calidad proteica y contenido de hemaglutininas en semillas tiernas y en estado seco de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) variedad coscorrón. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 27:91, 1977.
22. Contreras, S. & M. A. Tagle. Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile. III. Hemaglutininas. *Arch. Latinoamer. Nutr.*, 24:191, 1974.
23. de Muelenaere, H. J. H. Effect of heat treatment on the haemagglutinating activity of legumes. *Nature*, 201:1029, 1964.
24. Casa Nacional del Niño, Santiago, Chile. Comunicación personal.
25. Korte, R. Heat resistance of phytohemagglutinins in weaning food mixtures containing beans (*Phaseolus vulgaris*). *Ecol. Food Nutr.*, 1: 303, 1972.