

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

"CUANTIFICACION DE TANINOS
EN SEMILLAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris* L.)
DURANTE SU DESARROLLO Y MADURACION"

TESIS

TESIS DE REFERENCIA
NO

Presentada a la

SE PUEDE SACAR DE LA BIBLIOTECA
BIBLIOTECA CENTRAL - USAC

Honorable Junta Directiva de la

Facultad de Agronomía de la

Universidad de San Carlos de Guatemala

Por:

EDGAR AMILCAR MARTINEZ TAMBITO

En el acto de su investidura como:

INGENIERO AGRONOMO

En el grado académico de:

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

Guatemala, Agosto de 1979

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central
Sección de Tesis

R
01
T(375)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

LIC. SAUL OSORIO PAZ

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

Decano	Dr. Antonio Sandoval S.
Vocal 1o.	Ing. Agr. Rodolfo Estrada
Vocal 3o.	Ing. Agr. Rudy A. Villatoro
Vocal 4o.	Br. Juan Miguel Irias
Vocal 5o.	
Secretario	Ing. Agr. Carlos Salcedo

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN

GENERAL PRIVADO:

Decano:	Ing. Agr. Rodolfo Estrada
Examinador	Ing. Agr. Rolando Aguilera
Examinador	Ing. Agr. Ricardo Miyares
Examinador	Dr. Antonio Sandoval
Secretario	Ing. Agr. Leonel Coronado



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apertura Postal No. 130

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia
Pres.

Guatemala,
21 de agosto de 1979.

Doctor
Antonio Sandoval S.
Decano
Facultad de Agronomía
Presente.

Señor Decano:

Es honroso poder informar que el trabajo de tesis del Ingeniero Agrónomo Infieri, Edgar Amilcar Martínez Tambito, titulado "CUANTIFICACION DE TANINOS EN SEMILLAS DE FRIJOL COMUN (Phaseolus vulgaris L.) DURANTE SU DESARROLLO Y MADURACION", ha sido revisado y llena los requisitos exigidos por la Facultad de Agronomía

Deseo recomendar que dicho trabajo sea aceptado por la Honorable Junta Directiva, considerando que este trabajo representa una excelente contribución al conocimiento del tema investigado.

Atentamente.



"DID Y ENSEÑAD A TODOS"

Dr. Romeo Martínez Rodas
Director del Departamento
de Ciencia Vegetal.

RMR/cher.

INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA

COSTA RICA
EL SALVADOR
GUATEMALA

APORTANDO FUERZA 1988

OFICINA SANITARIA PANAMERICANA
OFICINA REGIONAL DE LA
ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

CARRETERA ROOSEVELT ZONA II
SANTAFÉ DE C. A.

CABLE: INCAP

HONDURAS
NICARAGUA
PANAMA

TELEFONOS 45743 AL 45767

13 de agosto de 1979

Doctor
Antonio A. Sandoval
Decano de la Facultad de Agronomía
Presente

Señor Decano:

Por medio de la presente me complace comunicarle a usted que en la presente fecha he concluido la revisión y corrección del trabajo de tesis del estudiante Edgar Amílcar Martínez Tarbilo, titulado "CUANTIFICACION DE TANNINOS EN SEMILLAS DE FRIJOL COMÚN (*Phaseolus vulgaris* L) DURANTE SU DESARROLLO Y MADURACION", trabajo realizado en los laboratorios de Química Agrícola del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP).

Dicha tesis ha sido revisada satisfactoriamente y considero que reúne los requisitos para su aprobación.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para suscribirme de usted,

Atentamente

Ricardo Bressani

Dr. Ricardo Bressani, Jefe
División de Ciencias Agrícolas
y de Alimentos

ASESOR

Guatemala, Agosto de 1979

Honorable Junta Directiva

Honorable Tribunal Examinador

Facultad de Agronomía

En cumplimiento a lo establecido en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado: "CUANTIFICACION DE TANINOS EN SEMILLAS DE FRIJOL COMUN (Phaseolus vulgaris L.) DURANTE SU DESARROLLO Y MADURACION", con el propósito de cumplir con el requisito previo a optar el título de INGENIERO AGRONOMO.

En espera que el presente trabajo merezca vuestra aprobación, me es grato suscribirme muy respetuosamente.

EDGAR AMILCAR MARTINEZ TAMBITO

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

*Porque EL es el que dá la sabiduría
el conocimiento y la inteligencia.*

A MIS PADRES

*Juventino Martínez C.
María S. Tambito de Martinez*

A MI ESPOSA

Hilda Ordóñez de Martinez

A MIS HERMANOS

*Aníbal
Ilma Mercedes
Sandra Dineth
Mayron Juventino
Leonel*

A MIS TIO(A)S

A MIS PRIMO(A)S

TESIS QUE DEDICO

A MI

PATRIA GUATEMALA

A LA

FACULTAD DE AGRONOMIA

AL

*DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGIA DE
LA FACULTAD DE AGRONOMIA*

A

MIS COMPAÑEROS DE ESTUDIO

A

MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO

AGRADECIMIENTO

A MIS ASESORES

Dr. Ricardo Bressani

Dr. Romeo Martínez

AL

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

AL

*Personal de laboratorio de la división
de Química Agrícola del INCAP.*

A LA

Ingeniera Elvira de Mejía

AL

Dr. Oscar Pineda

A LA

Familia Ordóñez Monzón

CONTENIDO

I. INTRODUCCION

II. OBJETIVOS

III. HIPOTESIS

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

- Definición del término tanino
- Clasificación de los compuestos fenolicos
- Clasificación de los taninos
- Propiedades biológicas de los taninos
- Compuestos fenolicos en semillas
- Polifenol oxidasa
- Mecanismos de Oxidación de O-difenoles

V. MATERIALES Y METODOS

VI. RESULTADOS

VII. DISCUSIONES

VIII. CONCLUSIONES

IX. BIBLIOGRAFIA

X. APENDICE

I.— INTRODUCCION:

Los dos grupos de plantas productoras de semillas más importantes como fuentes de alimentación humana y animal son las pertenecientes a la familia botánica de las Gramíneas y parte de las que forman el grupo de las Leguminosas

Los frijoles son apreciados no solo por su valor energético, sino por el gran valor de la proteína que suministran. Resulta pues, especialmente valiosa como complemento de los cereales en aquellas regiones donde la población hace uso limitado de la proteína de productos animales (Frear 1950). De ahí la importancia que tiene el buen aprovechamiento de la proteína de los frijoles, que es de 22 o/o en promedio (Orozco 1977), la cual se pierde en un buen porcentaje debido a varios factores, uno de los cuales es la fijación por parte de los compuestos polifenólicos (taninos) (Maymone and Battaglini 1953; Meregalli 1954), los cuales se encuentran presentes en todos los estados de desarrollo y maduración de la semilla, especialmente en la cubierta o testa (Marbach and Mayer 1975.)

La cuantificación y localización de los taninos en semillas de frijol, es de vital importancia, para trabajos posteriores de mejoramiento genético del frijol y estudios más profundos sobre la heredabilidad de los taninos; y hacer evaluaciones biológicas para determinar exactamente el porcentaje de proteína fijada por estos compuestos, especialmente aquella en la

cual intervienen aminoácidos azufrados, de la cual el frijol, según estudios realizados, es deficiente (Gómez 1970).

II.— OBJETIVOS

- 1) Cuantificar los taninos en semillas enteras de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) durante su desarrollo y maduración.
- 2) Determinar la actividad de la Polifenol Oxidasa en semillas enteras de frijol común durante su desarrollo y maduración.

III.— HIPOTESIS A EVALUAR

- 1) Desde las etapas tempranas de desarrollo y maduración de las semillas de frijol común existe una formación y acumulación de taninos en la semilla.
- 2) Las semillas de frijol Negro acumulan mayores cantidades de taninos durante todo su proceso de desarrollo y maduración que las semillas de frijol Blanco.
- 3) La pigmentación de las semillas (color) está relacionada en forma directa con la concentración de taninos.
- 4) La actividad de la polifenol oxidasa está relacionada directamente con la concentración de taninos en las semillas de frijol común.

IV. REVISION DE LITERATURA

DEFINICION DEL TERMINO TANINO:

El término Tanino fue descrito por Seguin en 1976 para describir algunas sustancias presentes en un número de extractos de vegetales que son los responsables de la conversión de pieles putrefactas de animales en productos acabados por el proceso de curtiembre (Swain, T. 1965).

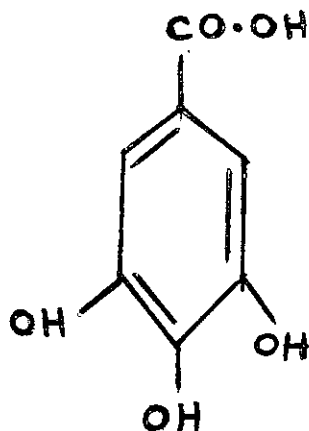
Los taninos son solo una parte de los polifenoles - presentes en los vegetales y mucha de la información botánica de la presencia de taninos en las plantas, es puesta en duda porque está basada en métodos no específicos de identificación. La Mayoría de los taninos se encuentran en pocas familias de las Dicotiledoneas tales como en las Leguminosas (White T. 1957).

CLASIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

En el reino vegetal se encuentran un número bastante grande de sustancias fenolicas, en su mayor parte en forma de glicosidos o ésteres. Pueden clasificarse en tres grupos basándose en el número de anillos aromáticos de la molécula:

1) Fenoles con un anillo aromático: Ejemplo: ácidogálico que está ampliamente distribuido en plantas tales como *Geranium pyrenaicum*. Su fórmula es:

n



2) Fenoles con dos anillos aromáticos: Este grupo comprende los flavonoides, isoflavonoides y rotenoides.

3) Compuestos fenólicos poliméricos: Taninos.

CLASIFICACION DE LOS TANINOS

Los taninos son un grupo heterogeneo de compuestos polihidroxifenólicos, cuyos pesos moleculares oscilan entre 600 y 2000 (Davies & Giovanelli 1969). Haslam 1966 dice que los taninos de las plantas son polímeros fenólicos complejos conteniendo grupos alifáticos e hidroxifenolicos y en algunos casos grupos carboxílicos.

Los taninos han sido clasificados en dos grupos: Taninos hidrolizables y taninos condensados (Schanderl 1970 ; White 1957; Swain 1965; Davies & Giovanelli 1969).

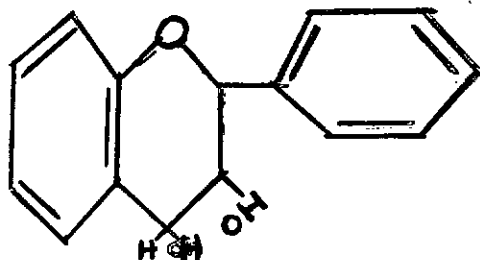
Taninos Hidrolizables; Por hidrólisis dan carbohidratos generalmente glucosa y acidos fenólicos. Ej: Acido gálico.

Taninos Condensados: Este grupo es el que está más

ampliamente distribuido en plantas superiores (Schanderl 1970; White 1957).

Los taninos condensados contienen pocos carbohidratos y se convierten en flobafenos amorfos insolubles por la acción de los ácidos minerales. Los taninos condensados son polímeros de leucoantocianinas o de catequinas o polímeros de flavonoides mezclados (Davies & Giovanelli 1969).

La catequina tiene una configuración Trans y la epicatequina Cis (en el C-3). La catequina poseen una marcada tendencia a polimerizarse y se hallan ampliamente distribuidas. Su fórmula es la siguiente:



PRESENCIA DE TANINOS EN LAS PLANTAS

Una de las pruebas que demuestran la presencia de taninos en las plantas, es la de producir un color rojo al ser tratado con vainillina y un ácido fuerte, siguiendo este criterio, las leucoantocianinas podrían ser responsables de muchas reacciones de los taninos. En el caso de las especies de Eucaliptus, es posible que las leucoantocianinas sean las precursoras de los taninos condensados.

En el género *Pisum* se ha demostrado que los compuestos polifenólicos se concentran en mayores cantidades en la testa que en los cotiledones; así como también los nive-

les de la actividad de la catecol Oxidasa son elevados, observándose un aumento de la actividad en los estados avanzados de desarrollo de la semilla (Marbach and Mayer 1974, 1975).

PROPIEDADES BIOLOGICAS DE LOS TANINOS

Los compuestos fenólicos han sido considerados durante mucho tiempo como productos finales del metabolismo y se ha discutido mucho su significación fisiológicas. Sin embargo se ha demostrado que en ciertos casos estos compuestos no son metabólicamente inertes. Ej: Las plantulas de Alforfon incorporan a la rutina y cianidina fenilalanina, en el grupo carboxilo, marcada; después de alcanzar un máximo, la actividad específica de la rutina y cianidina declina, lo que sugieren que ambas sustancias son metabolizadas (Davies & Giovanelli 1969).

White 1957 dice que los verdaderos taninos rara vez se encuentran en tejidos metabólicos activos y considera su papel como protectores de partes vulnerables de la planta de ataques microbiológicos.

La actividad de muchos sistemas enzimáticos es inhibida por los taninos (Pridham 1963), debido a la habilidad de formar enlaces con la proteína y otros polímeros, interfiriendo así también en la actividad de organelos de la célula (Swain T. 1965).

Maymone and Batagline 1953; Meregalli 1954 dicen: que debido a la inhibición de las enzimas por los taninos,

es de esperar que la digestión por los rumiantes de la fibra cruda y la proteína de los forrajes que contienen taninos se ve disminuida.

La preferencia de los taninos por la proteína explican las correlaciones negativas encontradas entre el contenido de taninos y la digestibilidad de la proteína (Donnelly and Hawkins 1955).

Los taninos teniendo como base una estructura polifenólica, es capaz de interaccionar con las proteínas, formando un complejo insoluble. Este complejo se forma entre los grupos OH del polifenol y los grupos $-CO-$ de las uniones peptídicas de las proteínas.

La capacidad para formar complejos con las proteínas aumenta a medida que el número de grupos OH en los polifenoles también aumenta (González de Fernández 1975).

Los ácidos cafeico, clorogénico y tánico contenidos en la pulpa de café son responsables del cambio de color de esta (de color rojo cambia a un más claro, cuando ésta se pone en contacto con el aire). Este cambio se ha atribuido a reacciones de empardeamiento enzimático causado por la oxidación de los polifenoles. (Bressani 1978). Los polifenoles pueden interferir con la utilización de la proteína, ligándola, teniendo a su vez un efecto sobre su digestibilidad (Bressani 1978).

Estudios realizados con pollos alimentados con sorgo, se demostró una disminución de la digestibilidad de la proteína proporcional a los taninos ingeridos. (Gonzalez de Fernández

1975).

COMPUESTOS FENOLICOS EN SEMILLAS

Estudios realizados en *Pisum elatius* han revelado cantidades apreciables de O-dihidroxifenoles en todos los estados de desarrollo y maduración de la semilla (Marbach and Mayer 1975).

Estudios realizados por González de Fernández 1975 en semillas de *Phaseolus vulgaris* revelaron concentraciones más altas de taninos en la testa de la semilla que en los cotiledones, y que aun es mayor en semillas de color rojo y negro que en semillas de color blanco. También encontró una correlación entre el contenido de taninos en frijol y la actividad de inhibidores de Tripsina.

Marbach and Mayer 1974 dicen que los compuestos fenolicos en la testa de las semillas parecen estar relacionadas con los cambios de la permeabilidad al agua en *Heysarum* un género de leguminosas ha sido demostrado que existe una correlación entre el color de la testa y su permeabilidad al agua.

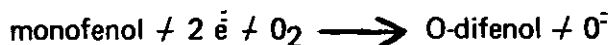
Los compuestos fenolicos en *Pisum elatius* se han detectado en cantidades apreciables desde los primeros estados de formación y maduración de la semilla, no presentando cambios significativos en los estados avanzados de maduración (Marbach and Mayer 1975).

Polifenol Oxidasa:

La polifenol Oxidas (O-difenol: Oxigenoxidorectasa; E. C. 1.10.3.1) ha sido llamada tirosinasa, polifenolasa, fenolasa, catecol oxidasa, cresolasa, catecolasa.

Esta enzima está presente probablemente en todas las plantas, pero se encuentra en altas concentraciones particularmente en hongos, tubérculos de papa, duraznos, manzanas, banas, aguacates, hojas de té, café y tabaco (Whitaker 1972), - produciendo un empardeamiento, producto de algunos mono hidroxí y o-dihidroxifenoles.

La polifenol oxidasa cataliza la oxidación de O-difenoles (actividad catecolasa) y la hidroxilación de muchos monofenoles (actividad cresolasa). Mason (1957) indica las siguientes reacciones:



Mecanismos de oxidación de O-difenoles:

Los mecanismos de oxidación de O-difenoles por la polifenol oxidasa no son bien conocidos con certeza (Whitaker 1972) propone uno.

El sustrato mas usado frecuentemente en ensayos de la actividad de la polifenol oxidasa, es el catecol.

La actividad catecolasa de la polifenol oxidasa puede

ser medida independientemente de la actividad cresolasa, usando O-difenoles como sustrato. Sin embargo esta medición es bastante complicada por: a) una rápida inactivación de la enzima durante la reacción, b) además de la polimerización de benzoquinona formada, resultando un cambio en la absorbancia y oxígeno adicional tomado y c) inhibición por altas concentraciones de sustrato (Witaker 1972).

La polifenol oxidasa ha sido implicada en muchos cambios metabólicos y reacciones en tejidos de frutos. (Flurkey and Jen 1978).

Reyes and Luh afirman que las reacciones de empardeamiento enzimático son producidas por peroxidasas y polifenol oxidasa en frutos almacenados y bajo refrigeración, éste empardeamiento va acompañado por cambios de color, sabor y valor nutritivo disminuyendo la calidad del fruto.

Harel and Mayer (1970) en estudios realizados con duraznos durante su desarrollo observaron que los cambios en niveles de catecol oxidasa correspondieron a cambios en el contenido de proteína de la fruta, no así en cambios en la cantidad de O-difenoles.

V. MATERIALES Y METODOS

Aparatos: La actividad de la polifenol oxidasa se determinó espectrofotométricamente, usando para ello un Gilford 2000 con su baño de maría calibrado a 37° y con graficador de carta.

Los extractos de frijol se centrifugaron a 10,000g en una centrifuga marca Servall Supespeed RC-2 automática con control de tiempo y temperatura.

La determinación de proteína se realizó por dos métodos: a) Micro-kjeldhal (AOAC 1970) y b) por absorción ultravioleta a 280 y 260 nm en un espectrofotometro Beckman modelo 24 (Colowick y Col. 1957).

Las muestras fueron secadas en una liofilizadora marca Vitis modelo 10-MR-TR The Virtis company, Inc. a -37°C durante 6 horas.

En la determinación de taninos, la extracción se realizó en un baño de maría Giroty water Bath Shaker modelo G76 de la New Brunswick Scientific N.J, USA. calibrado a 30°C , y las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro Beckman mod. 24.

Reactivos: En la determinación de la actividad de la polifenol oxidasa se utilizó como substrato Catecol; bufer de fosfato di-acido de potasio (H_2KPO_4) a pH 6.2 0.05M conteniendo KCl 1M; policlar 5 o/o (peso/peso) y otro bufer de fosfato di-acido de potasio a pH 6.2 0.05M

En la determinación de taninos se preparó una solución de vainilina en metanol, al 1 o/o; ácido Clorhídrico (HCl) en metanol, al 4 o/o y para la curva estándar 60 mg de catequina en 100 ml. de metanol.

Muestras: Se trabajó con semillas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) color negro variedad suchitan y frijol blanco variedad criolla del municipio de San Juan Sacatepéquez, Guatemala.

Para la obtención del material, se establecieron 5 tratamientos (muestreos) con 3 repeticiones, dispuestos en un diseño al irrestricto azar, montado en la Finca Experimental del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), situada en el municipio de San Juan Sacatepéquez, Guatemala, que se encuentra a 1,840 metros sobre el nivel del mar (Conde 1974)

Durante el ciclo del cultivo se realizaron 5 muestreos, con un espaciamiento entre uno y otro de 8 a 10 días (Conde 1974; Elías and Bressani 1973). A los 70, 78, 83, 90 y 97 días respectivamente después de la siembra. En el último muestreo, la semilla había llegado a su completa maduración.

Después de recolectada cada muestra, se pasó por tres tamices, el primero de 3mm, el segundo de 5mm y el tercero de 6 mm de abertura respectivamente.

En el primer muestreo se establecieron los tres tamaños y en los siguientes cuatro muestreos, solo se estableció el tamaño de 6 mm.

Las muestras tamizadas de almacenaron por unos pocos días en un cuarto frío a -8°C , luego fueron liofilizadas a -37°C .

Preparación del extracto de frijol para la determinación de la actividad de la polifenol oxidasa:

Las semillas de frijol liofilizadas se molieron y se hicieron pasar por una malla número 40.

Se pesó 1 gr. de la muestra, luego se extrajo la enzima con 10 ml. de bufer de fosfatos: $\text{pH } 6.2$ 0.05M conteniendo $\text{KCl } 1 \text{ M}$ y 5 o/o de policlar durante 10 minutos con un agitador magnético. Después se centrifugó a $10,000\text{g}$ durante 30 minutos a 4°C .

Se separó el sobrenadante y a éste se le determinó la actividad de la enzima (Flurkey and Jen 1978).

Determinación de la actividad de Polifenol Oxidasa.

Preparación del ensayo:

Para la determinación de la actividad de la enzima se realizaron 2 ensayos: a) El primero para encontrar la cantidad óptima de sustrato, en la cual, éste no fuera limitante y b) para encontrar la cantidad óptima de extracto a usar (enzima).

Para este estudio específico de extractos de frijol, se usaron las siguientes cantidades, establecido el ensayo:

- a) 200 ~~4~~ l de extractos de frijol (sobrenadante)
- b) 100 ~~4~~ l de substrato, o sea catecol 0.16M.
- c) 900 ~~4~~ l de bufer de fosfatos a p^H 6.2 0.05M.
- d) 100 ~~4~~ l de bufer de fosfatos a p^H 6.2 0.05M conteniendo KC1 1M., estos cuatro volúmenes se hicieron reaccionar en un tubo de ensayo pequeño, luego se agitó y se pasó a las cubetas del espectrofotómetro en forma rápida, haciendose las lecturas a 420 nm durante 5 minutos.

En el establecimiento del ensayo se encontró que el KC1 1M tenía un efecto inhibitorio sobre la actividad de la enzima, especialmente en volúmenes pequeños, para lo cual se recomienda que para las lecturas de la actividad se utilicen el bufer de fosfatos que contiene KC1 1M en la reacción final.

Determinación de taninos:

La determinación de taninos se hizo por el método de la vanilina (Burn 1971) que fue modificado por Price, Scouoc and Butler 1978).

Se pesan 200 mg. de frijol molido que halla sido pasado por una malla número 40. En un erlenmeyer de 50 ml. se extraen los taninos con 10 ml. de metanol puro durante 20 minutos en un baño de maría a 30°C y con agitación.

Después de la extracción se centrifuga a 10,000g durante 10 minutos, separándose el sobrenadante.

Se tomaron 3 tubos de ensayo y se les agregó una alicuota de 1 ml. a cada uno del sobrenadante, se les agregó solo a 2 tubos (duplicado) 5 ml. del reactivo compuesto por vanilina en metanol, al 1 o/o y HCl en metanol, al 8 o/o en volúmenes iguales y al tercer tubo (testigo) se le agregó 5 ml. de HCl en metanol, al 4 o/o, luego se dejaron incubando en un baño de maría a 30°C durante 20 minutos. Después se hicieron las lecturas en un espectrofotometro Beckman mod. 24 a 500 nm.

En esta determinación se hizo una curva estandar, utilizando 60 mg de Catequina en 100 ml de metanol y alicuotas de esta solución desde 0.1 a 1 ml, en triplicado y en las mismas condiciones que se trabajaron las muestras, luego las lecturas se hicieron a 500 nm.

Los reactivos deben de prepararse diariamente, mezclarse antes de usarse e incubarse a 30°C dentro del baño de maría.

VI. RESULTADOS

Vla) RESULTADOS:

Cuadros 1 y 2:

Se ilustra el porcentaje de humedad que tenían las semillas al momento de cada muestreo. Como puede observarse, las semillas del primer muestreo y tamiz 3, tanto en frijol negro como blanco, muestran un contenido grande de agua, esto se debió indudablemente al tamaño, estado fisiológico y - maduración de las semillas. Conforme las semillas fueron madurando, el contenido de humedad fue disminuyendo en ambos cultivares, hasta alcanzar valores de 21.90 o/o para frijol negro y 37.17 o/o para frijol blanco.

Cuadros 3 y 4:

En estos cuadros puede apreciarse el porcentaje de proteína en frijol negro y blanco. Estos resultados expresados en base húmeda presentan un orden ascendente, o sea que la proteína aumenta a medida que aumenta también la maduración de la semilla, tanto en blanco como en negro.

En cuanto a estos mismos resultados expresados en base seca, pareciera que al final de la maduración (quinto muestreo) disminuyera la proteína respecto al primer muestreo, tanto en frijol negro como en blanco, pero esta tendencia ya está establecida tanto para frijol como para otras semillas y granos (Elías y Col. 1973).

Cuadros 5 y 6:

La cantidad de taninos/100 gr. en base seca, alcanzó

valores máximos en el primer muestreo y tamiz 3, en el segundo muestreo se notó cierto descenso, luego en el tercer muestreo aumentó, logrando finalmente un valor bajo respecto al primer muestreo, tanto para frijol negro como para blanco.

El análisis de varianza para frijol negro mostró significancia entre tratamientos (días después de la siembra o muestreos) para los tamices 6, como puede verse en cuadro No. 6A y según prueba de Duncan (cuadro No. 7) se concluye que el tamiz No. 6 del primer muestreo posee una media mayor que las medias de los otros tratamientos. En cuanto al primer muestreo y tamices 3,5 y 6 no hubo significancia (cuadro No. 8).

En frijol blanco, entre tratamientos y tamaños, no existió significancia (cuadros 9 y 10).

Respecto a la cantidad de taninos en frijol negro y blanco, el cuadro No. 11 muestra significancia, o sea que fue mayor la cantidad encontrada (media) en frijol negro que en blanco.

Expresados estos valores o resultados en base húmeda (cuadros 5 y 6 columna $\bar{X}^a$) en frijol negro y blanco, siguen un patrón parecido al de base seca, con la diferencia que el valor final alcanzado aquí (quinto muestreo) es mayor que el inicial (primer muestreo).

En cuanto a los análisis estadísticos no se encontra—

ron diferencias significativas entre tratamientos (cuadros 12 y 13), pero si entre colores, siendo mayor la media en frijol negro (cuadro No. 14).

Cuadros 15 y 16:

Otra forma de expresar los resultados fue en mg. de tanino/ semilla, y puede observarse que los valores alcanzados en el quinto muestreo fueron los máximos en frijol negro y blanco, no existiendo significancia entre tratamientos ni entre cultivares (cuadros 17, 18 y 19).

Cuadros 20 y 21:

Los cambios encontrados en la actividad de la polifenol oxidasa fueron pequeños en frijol negro y blanco, no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ni colores (cuadros 22, 23, 24, 25 y 26)

Cuadros 27 y 28:

Muestran la proteína en mg/ml., Esta determinación se hizo con el objetivo de expresar la actividad de la enzima por mg. de proteína, utilizando el método de absorción ultravioleta. Al igual que el método Micro-kjeldhal, es estimativo y sumamente rápido. Al transformar los valores de proteína de — mg/ml a o/o, se observó un patrón similar al método de Micro-kjeldhal, tanto en frijol negro como en blanco, no existiendo significancia entre ambos métodos, como se ilustra en la prueba de significancia "t" del cuadro No. 29.

Todos los análisis estadísticos se realizaron al 5 o/o de significancia.

Cuadro No. 1

Porcentaje de humedad de las semillas de frijol negro
(variedad Suchitan) correspondientes a 5 etapas de desarrollo correlativas.

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	86.96	86.96	86.96	86.96
	Tamiz 5	84.59	84.59	84.59	84.59
	Tamiz 6	80.72	80.72	80.72	80.72
78 No. 2	Tamiz 6	72.05	70.91	69.17	70.71
83 No. 3	Tamiz 6	65.09	64.25	63.11	64.15
83 No. 3	Tamiz 6	65.09	64.25	63.11	64.15
90 No. 4	Tamiz 6	44.44	53.00	43.08	46.84
97 No. 5	Tamiz 6	18.19	22.73	24.78	21.90

b= días después de la siembra

Cuadro No. 2
Porcentaje de humedad de las semillas de frijol blanco
(variedad criolla) correspondiente a 5 etapas de desarrollo correlativas

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70b No. 1	Tamiz 3	88.86	88.86	88.86	88.86
	Tamiz 5	85.62	85.62	85.62	85.62
	Tamiz 6	78.89	78.89	78.89	78.89
78 No. 2	Tamiz 6	69.16	71.88	69.34	70.13
83 No. 3	Tamiz 6	65.47	62.83	64.86	69.39
90 No. 4	Tamiz 6	56.29	49.26	57.38	54.31
97 No. 5	Tamiz 6	31.51	35.07	35.94	37.17

b = días después de la siembra

Cuadro No. 3
Porcentaje de Proteína de las semillas enteras de frijol negro. Método de Micro-Kjeldhal.
Expresados en base Seca, correspondiente a 5 etapas de desarrollo

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$	$\bar{X}^a$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	26.48	29.78	33.09	29.78	3.88
	Tamiz 5	28.79	29.78	29.12	29.23	4.50
	Tamiz 6	26.48	28.13	27.14	27.25	5.25
78 No. 2	Tamiz 6	23.83	27.14	24.15	25.15	7.37
83 No. 3	Tamiz 6	24.82	25.81	24.82	25.15	9.02
90 No. 4	Tamiz 6	27.47	26.48	24.16	26.03	14.14
97 No. 5	Tamiz 6	24.49	26.48	22.83	24.60	19.21

$\bar{X}^a$ = expresado en base húmeda
 b = días después de la siembra.

Cuadro No. 5

**Porcentaje de Proteína de las semillas enteras de frijol Blanco. Método de Micro-Kjeldhal.
Expresados en base seca, correspondiente a 5 etapas de desarrollo**

Muestreo	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$	$\bar{X}^a$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	32.76	33.75	31.44	32.65	3.64
	Tamiz 5	25.15	30.12	32.10	29.12	4.19
	Tamiz 6	25.81	25.81	25.81	25.81	5.45
78 No. 2	Tamiz 6	21.84	21.18	22.50	21.84	6.52
83 No. 3	Tamiz 6	22.83	23.17	23.50	23.16	7.09
90 No. 4	Tamiz 6	23.17	23.33	23.17	23.22	10.61
97 No. 5	Tamiz 6	23.83	25.15	22.17	23.71	15.61

q $\bar{X}^a$ = expresada en base húmeda.

b= días después de la siembra.

Cuadro No. 5

Cantidad de Taninos gr/100 gr. de muestra seca, en semillas enteras de frijol Negro (variedad Suchitan), correspondiente a 5 etapas de desarrollo

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$	$\bar{X}^a$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	16.20	8.70	5.74	10.21	1.33
	Tamiz 5	9.30	6.76	8.70	8.25	1.27
	Tamiz 6	2.815	2.37	5.86	3.68	0.71
78 No. 2	Tamiz 6	0.915	0.840	1.12	0.958	0.28
83 No. 3	Tamiz 6	1.20	1.365	1.112	1.228	0.44
90 No. 4	Tamiz 6	0.930	1.135	0.610	0.892	0.47
97 No. 5	Tamiz 6	2.095	1.74	2.29	2.04	

$\bar{X}^a$ = expresados en base húmeda

b = días después de la siembra.

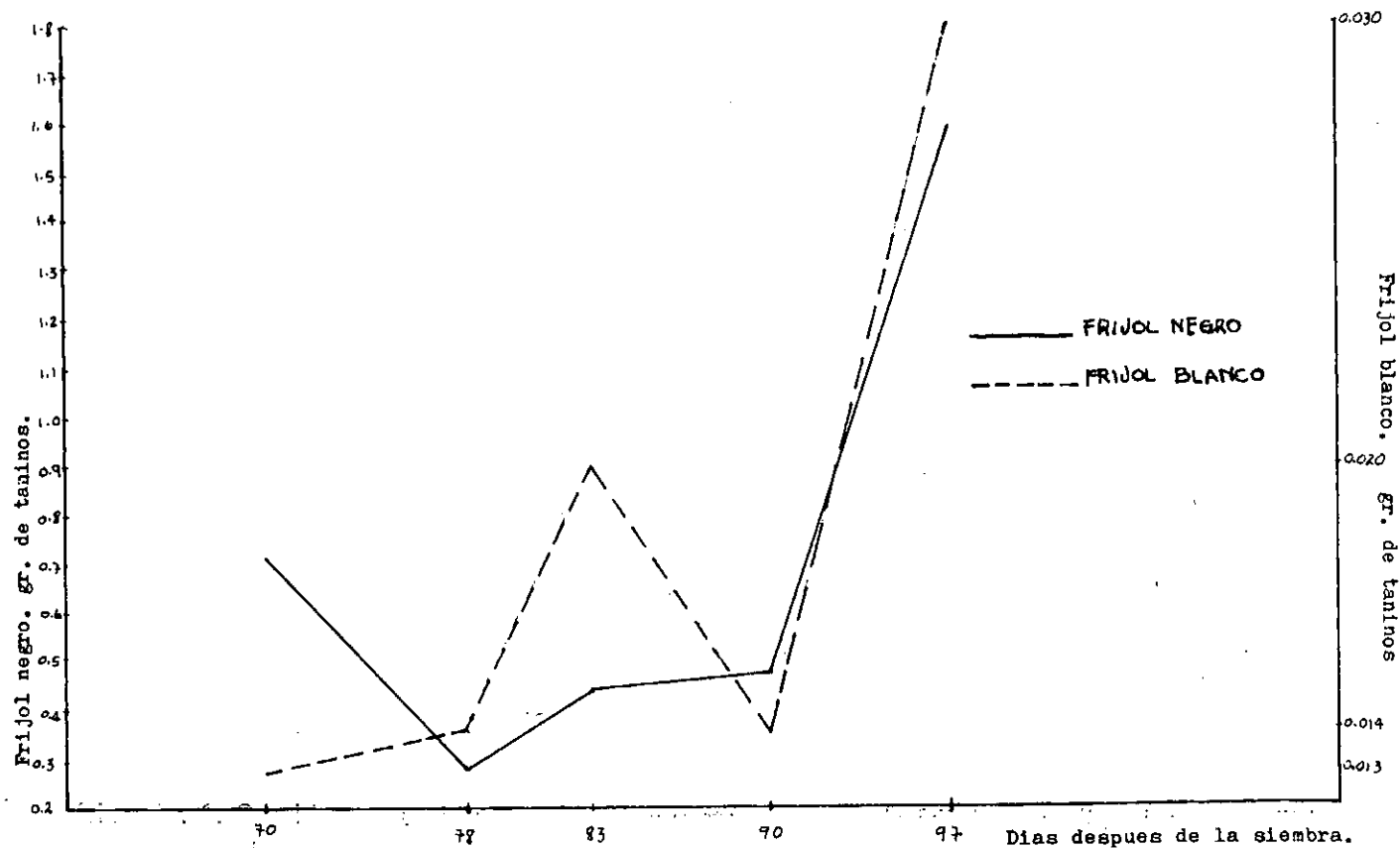
Cuadro No. 6

**Cantidad de Taninos gr./100 gr. de muestra seca, en semillas enteras de Frijol Blanco
(variedad criolla), correspondiente a 5 etapas de desarrollo.**

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$	$\bar{X}^a$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	0.281	0.087	0.091	0.153	0.017
	Tamiz 5	0.193	0.099	0.100	0.131	0.019
	Tamiz 6	0.071	0.057	0.057	0.062	0.013
78 No. 2	Tamiz 6	0.042	0.057	0.038	0.046	0.014
83 No. 3	Tamiz 6	0.057	0.062	0.071	0.064	0.020
90 No. 4	Tamiz 6	0.052	0.042	0.000	0.031	0.014
97 No. 5	Tamiz 6	0.047	0.042	0.052	0.047	0.031

$\bar{X}^a$ = expresados en base húmeda

b = días después de la siembra



Grafica No 1: Cantidad de taninos/100 gr. de muestra húmeda de frijol negro (izquierda) y frijol blanco (derecha), correspondiente a 5 etapas de desarrollo.

Cuadro No. 6A

**Análisis de Varianza para Taninos/100 gr.
de muestra en base seca. Frijol Negro.**

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C	C.M	F_c	F_t
Tratamientos	4	16.333	4.08		
Error Experimental	10	7.628	0.763	5.347	3.48(*)
Total	14	23.981			

Cuadro No. 7

Taninos/100 gr. de muestra en base seca Frijol Negro.

"PRUEBA DE DUNCAN"

$$M.D.S.N. = t_{do.05} \sqrt{\frac{C.M \text{ error}}{n}} = 0.504$$

	1	5	2	3	4
	5.86*	2.29*	1.12	1.112*	0.610*
1.	5.86	—	3.57*	4.74*	5.25*
5	2.29	—	1.17 (n,s)	1.178 (n,s)	5.25 (n,s)
2	1.12	—	—	0.008 (n,s)	0.51 (n,s)
3	1.112	—	—	—	0.502 (n,s)
4	0.610	—	—	—	—

Comparadores Duncan	2	3	4	5	Promedios incluidos en el rango
	1.588	1.663	1.698	1.729	

Cuadro No. 8

Análisis de Varianza para Taninos/100 gr. de muestra en base seca.
Primer muestreo. Frijol Negro.

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamientos	2	67.404	33.702	2.94	5.14 (N,S)
Error Experimental	6	68.883	11.481		
Total	8	136.287			



Cuadro No. 9

Análisis de Varianza para Taninos/100 gr.
de muestra en base seca. Frijol Negro

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamientos	4	0.00207	0.00052	0.26	3.48 (N,S)
Error Experimental	10	0.00200	0.0002		
Total	14	0.00407			

Cuadro No. 10

Análisis de Varianza para Taninos/100 gr. de muestra en base seca.

Primer muestreo. Frijol Negro

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamientos	2	0.0136015556	0.0068007778	1.34	5.14 (N,S)
Error Experimental	6	0.030543333	0.0050905556		
Total	8	0.0441448889			

Cuadro No. 11
Prueba de significancia "t" para taninos/100 gr. de muestra en base seca.
Frijol Negro y Blanco

X_1 = frijol negro

X_2 = frijol blanco

Muestreo	Taninos F. Negro	X_1^2	Taninos F. Blanco	X_2^2
No. 1	3.68		0.062	
No. 2	0.958		0.046	
No. 3	1.228		0.064	
No. 4	0.892		0.031	
No. 5	2.04		0.047	
	$\Sigma = 8.798$ $\bar{X}_1 = 1.76$	$\Sigma = 20.925412$	$\Sigma = 0.25$ $\bar{X}_2 = 0.025$	$\Sigma = 0.013226$

$$X_1^2 = 5.4444512$$

$$S_x = 0.52$$

$$X_2^2 = 0.000726$$

$$t_c = 3.29^*$$

$$2 \quad 2$$

$$S_c = 0.68$$

$$t_t = 2.306$$

Cuadro No. 12

Análisis de Varianza para Taninos/100 gr. de muestra húmeda.

Frijol Negro

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamiento	4	0.363	0.090	0.092	3.48(N,S)
Error Experimental	10	9.749	0.975		
Total	14	10.111			

Cuadro No. 13

Análisis de Varianza para Taninos/100 gr. de muestra húmeda.

Frijol Blanco

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t
Tratamientos	4	0.0000764	0.0000191	0.0327	3.48 (N,S)
Error Experimental	10	0.0058352	0.00058352		
Total	14	0.0059116			

Cuadro No. 14

Prueba de significancia "t" para cantidad de Taninos/100 gr. de muestra en base húmeda

X₁ = Frijol Negro

X₂ = Frijol Blanco

Muestreos	Taninos/100 gr. X ₁	X ₁ ²	Taninos/100 gr. X ₂	X ₂ ²
No. 1	0.71		0.013	
No. 2	0.28		0.014	
No. 3	0.44		0.020	
No. 4	0.47		0.014	
No. 5	1.59		0.031	
	Σ = 3.49	Σ = 3.5251	Σ = 0.092	Σ = 0.001922

$$\bar{X}_1 = 0.698$$

$$\bar{X}_2 = 0.0184$$

$$S_c^2 = 0.1361350066$$

$$S_x = 0.2333538143$$

$$t_c = 2.91^*$$

$$t_t = 2.306$$

Cuadro No. 15
Contenido de taninos (mg/semilla) expresados en base seca de las semillas de frijol negro,
correspondiente a 5 etapas de desarrollo

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	0.802	0.468	0.307	0.526
	Tamiz 5	1.788	1.275	1.673	1.579
	Tamiz 6	1.224	0.948	2.664	1.612
78 No. 2	Tamiz 6	0.832	0.933	1.244	1.003
83 No. 3	Tamiz 6	2.00	1.950	1.600	1.850
90 No. 4	Tamiz 6	2.325	2.838	1.220	2.128
97 No. 5	Tamiz 6	4.190	3.480	4.580	4.085

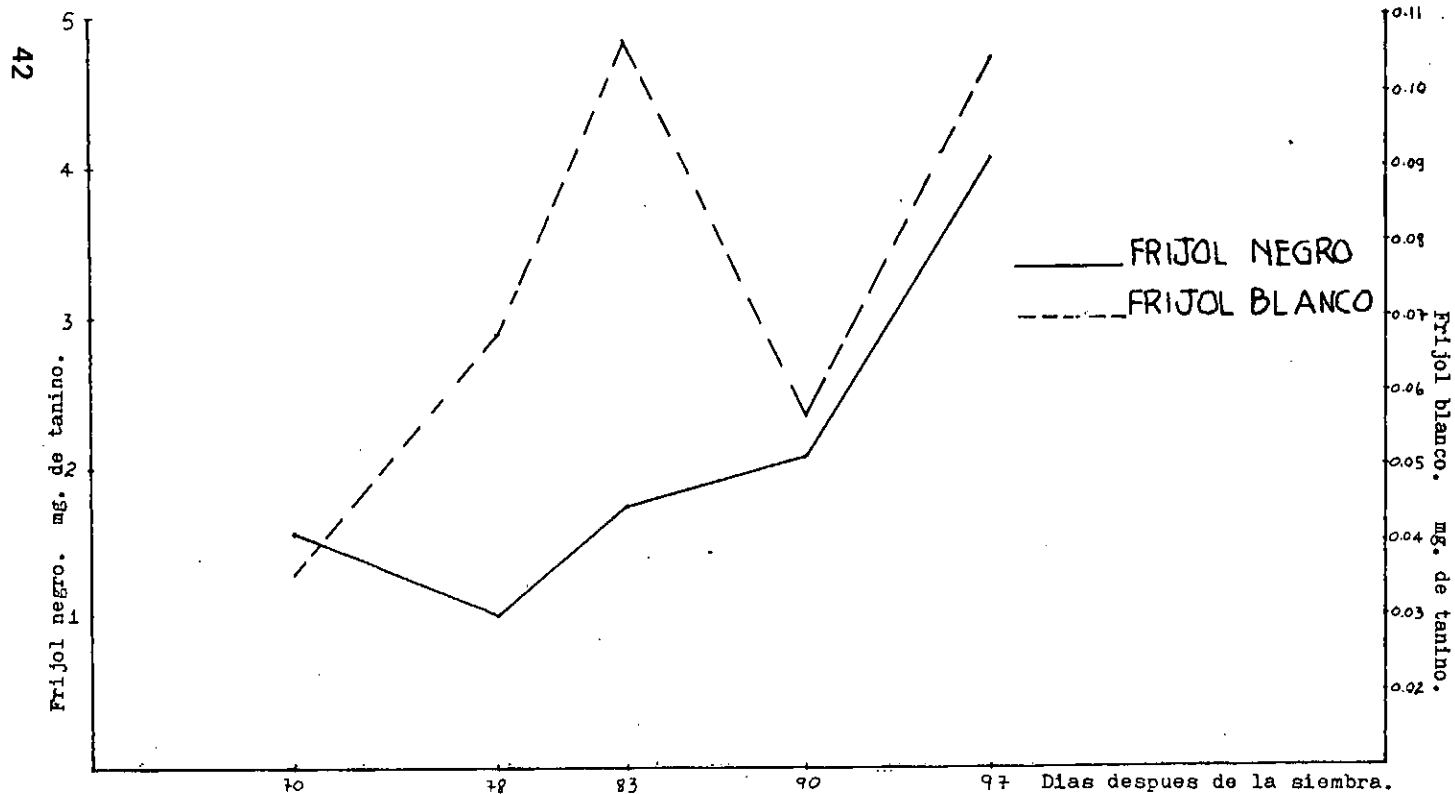
b = días después de la siembra

Cuadro No. 16

Contenido de taninos (mg/semilla) expresados en base seca de las semillas de frijol blanco, correspondiente a 5 etapas de desarrollo

Muestreo	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	0.015	0.005	0.005	0.008
	Tamiz 5	0.037	0.016	0.017	0.023
	Tamiz 6	0.039	0.034	0.036	0.036
78 No. 2	Tamiz 6	0.047	0.095	0.063	0.068
83 No. 3	Tamiz 6	0.095	0.125	0.102	0.107
90 No. 4	Tamiz 6	0.086	0.084	0.000	0.057
97 No. 5	Tamiz 6	0.106	0.105	0.104	0.105

b = número de días después de la siembra



Grafica No 2: Cantidad de tanino en mg./semilla seca de frijol negro(izquierda) y frijol blanco (derecha) correspondiente a 5 etapas de desarrollo.

Cuadro No. 17

Analisis de varianza para mg. de Taninos/semilla Seca.

Frijol Negro

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamientos	4	1.81031	0.45257		
Error Experimental	10	79.14891	7.91489	0.057	3.48(N,S)
Total	14	80.95922			

Cuadro No. 18

Análisis de Varianza para mg. de Taninos/semilla Seca.

Frijol Blanco

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t
Tratamientos	4	0.0012724	0.003181	0.035	3.48 (N,S)
Error Experimental	10	0.0912113	0.0091211		
Total	14	0.09248			

Cuadro No. 19
Prueba de significancia "t" para taninos (mg.) semilla seca en frijol negro y blanco
 X_1 = frijol negro
 X_2 = frijol blanco

Muestreos	taninos mg/semilla frijol negro X_1	X_1^2	taninos mg/semilla frijol blanco X_2	X_2^2
1	1.612		0.036	
2	1.003		0.068	
3	1.850		0.107	
4	2.128		0.057	
5	4.083		0.105	
	$\Sigma = 10.676$	$\Sigma = 28.226326$	$\Sigma = 0.373$	$\Sigma = 0.031642$

$$\bar{X}_1 = 2.1352$$

$$\bar{X}_2 = 0.0746$$

$$X_1^2 = 5.43$$

$$S_{\bar{X}} = 1.2141845$$

$$t_c = 1.70 \text{ (N,S)}$$

$$X_2 = 0.0038172$$

$$t_t = 2.306$$

$$S_c^2 = 3.685.61$$

Cuadro No. 20
Actividad Específica (420 Abs/min./mg proteína a 37°C) de Polifenol Oxidasa
en semillas de Frijol Negro, correspondiente a 5 etapas de desarrollo.

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	0.0004	0.0005	0.0003	0.0004
	Tamiz 5	0.003	0.003	0.0002	0.002
	Tamiz 6	0.004	0.009	0.002	0.005
78 No. 2	Tamiz 6	0.003	0.004	0.003	0.003
83 No. 3	Tamiz 6	0.001	0.002	0.001	0.001
90 No. 4	Tamiz 6	0.002	0.004	0.002	0.003
97 No. 5	Tamiz 6	0.002	0.002	0.002	0.002

b = días despues de la siembra

Cuadro No. 21

Actividad Específica (420 Abs./min./mg. proteína a 37°C) de Polifenol Oxidasa en semillas de frijol blanco, correspondiente a 5 etapas de desarrollo

Muestras	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	0.003	0.001	0.001	0.002
	Tamiz 5	0.008	0.003	0.003	0.005
	Tamiz 6	0.005	0.003	0.005	0.004
78 No. 2	Tamiz 6	0.005	0.003	0.003	0.004
83 No. 3	Tamiz 6	0.004	0.004	0.001	0.003
90 No. 4	Tamiz 6	0.003	0.004	0.001	0.003
97 No. 5	Tamiz 6	0.001	0.002	0.002	0.002

b= días después de la siembra

Cuadro No. 22

Análisis de Varianza para Actividad Específica de Polifenol Oxidasa
Frijol Negro. Base Seca

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t
Tratamiento	4	0.0002373	0.0000081825	0.205	3.48(N,S)
Error Experimental	10	0.0003995	0.00004995		
Total	14	0.0004232			

Cuadro No. 23
Análisis de Varianza para Actividad Específica de Polifenol Oxidasa.
Frijol Blanco. Base Seca

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t
Tratamientos	4	0.000012266	0.0000030667	1.84	3.48(N,S)
Error Experimental	10	0.0000016666	0.0000016666		
Total	14	0.000028933			

Cuadro No. 24

**Análisis de Varianza para Actividad específica de Polifenol Oxidasa
en semillas de Frijol Negro en base seca. Primer muestreo**

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F_c	F_t
Tratamientos	2	0.0000325422	0.0000162711	3.12	5.14 (N,S)
Error Experimental	6	0.0000312467	0.0000052078		
Total	8	0.0000637889			

Cuadro No. 25

**Análisis de Varianza para Actividad específica de Polifenol Oxidasa
en semillas de Frijol Blanco en base seca. Primer Muestreo**

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F _c	F _t
Tratamientos	2	0.000016222	0.00008111	2.21	5.14(N,S)
Error Experimental	6	0.000022	0.000003666		
Total	8	0.000038222			

Cuadro No. 26
Prueba de significancia "t" para la actividad de la polifenol oxidasa en frijol negro y blanco

X_1 = frijol negro

X_2 = frijol blanco

Muestreos	Actividad de la enzima f. Negro X_1	X_1^2	Actividad de la enzima. F. Blanco X_2	X_2^2
No. 1	0.0043		0.005	
No. 2	0.0037		0.0033	
No. 3	0.0003		0.0013	
No. 4	0.0027		0.0027	
No. 5	0.0017		0.002	
	$\Sigma = 0.0154$	$\Sigma = 5.136$	$\Sigma = 0.0143$	$\Sigma = 4.887 \times 10^{-5}$

$$\bar{X}_1 = 0.00308$$

$$\bar{X}_2 = 0.00286$$

$$X_1^2 = 3.928 \times 10^{-6}$$

$$S_x = 7.72 \times 10^{-4}$$

$$X_2^2 = 7.972 \times 10^{-6}$$

$$t_c = 0.285 \text{ (N,S)}$$

$$S_c^2 = 1.49 \times 10^{-6}$$

$$t_t = 2.306$$

Cuadro No. 27

Determinación de Proteína (mg/ml) expresado en base seca, de los extractos de frijol negro (variedad Suchitán) correspondiente a 5 etapas de desarrollo. Método ultra-violeta

Muestras	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	12.57	10.82	18.70	14.03
	Tamiz 5	10.47	13.92	23.88	16.09
	Tamiz 6	11.07	11.80	18.01	13.63
78 No. 2	Tamiz 6	26.31	24.98	27.02	27.37
83 No. 3	Tamiz 6	28.58	26.62	26.92	27.37
90 No. 4	Tamiz 6	28.56	23.29	27.70	26.52
97 No. 5	Tamiz 6	17.61	22.22	16.31	18.71

b = días después de la siembra.

Cuadro No. 28

Determinación de Proteína (mg/ml) expresado en base seca, de los extractos de frijol blanco (variedad criolla) correspondiente a 5 etapas de desarrollo. Método ultra-violeta

Muestreos	Tamaños	Replica 1	Replica 2	Replica 3	$\bar{X}$
70 ^b No. 1	Tamiz 3	29.26	32.83	24.81	28.96
	Tamiz 5	26.06	24.42	24.81	25.09
	Tamiz 6	27.63	25.35	38.09	30.39
78 No. 2	Tamiz 6	24.22	24.89	22.78	23.96
83 No. 3	Tamiz 6	25.35	24.47	20.65	23.49
90 No. 4	Tamiz 6	24.89	28.49	25.85	26.41
97 No. 5	Tamiz 6	18.53	19.98	19.08	19.19

b = días después de la siembra

Cuadro No. 29

Prueba de significancia "t" para el contenido de proteína determinado por el método Micro-kjeldhal y Absorción Ultravioleta. Frijol Negro

X_1 = Método Ultravioleta (U.V.)

X_2 = Método Micro-kjeldhal (M.K.)

Muestreos	U.V. X_1	X_1^2	M.K X_2	X_2^2
No. 1	13.63		27.25	
No. 2	27.37		25.15	
No. 3	27.37		25.15	
No. 4	26.52		26.03	
No. 5	18.71		24.60	
	$\Sigma = 113.5$	$\Sigma = 2737.3852$	$\Sigma = 128.18$	$\Sigma = 3290.3282$

$$\bar{X}_1 = 22.72$$

$$\Sigma X_1 = 160.9352$$

$$\Sigma X_1^2 = 4.30592$$

$$S_{c2} = 20.65514$$

$$S_x = 2.874$$

$$\bar{X}_2 = 25.636$$

$$t_c = 1.04 (N, S)$$

$$t_t = 2.306$$

VII. DISCUSION DE RESULTADOS

Durante los últimos años se le ha prestado atención a los taninos (polifenoles) del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) debido a que se ha indicado que desde el punto de vista agronómico es útil ya que ofrece resistencia al ataque bacteriológico durante su germinación (White 1957). Por el contrario existe también cierta evidencia de que estas sustancias pueden reducir el valor nutritivo de la proteína del frijol, ya que los taninos pueden reaccionar con ella (González de Fernández 1975), haciéndola biológicamente poco disponible para el organismo animal (Bressani 1978). Además, se ha postulado que el tanino en el frijol, puede jugar un papel en aceptabilidad por el consumidor (Linares y Col. 1979). Por estas razones se ha considerado importante conocer más sobre el papel de estos compuestos en este alimento, fuente importante de proteína para grandes grupos de población (Elías y Col. 1979).

La revisión bibliográfica indica que no existen datos sobre el contenido de taninos en el frijol durante su maduración. El grano maduro contiene cantidades variables de acuerdo al color siendo los blancos los de menor cantidad y luego los rojos, negros y café con mayor cantidad, aunque variable dentro del color (Elías y Col. 1979; Gonzalez de Fernández 1975). Por consiguiente estas sustancias deben producirse en algún momento después de la fertilización del ovulo.

Los resultados obtenidos indican que estas sustancias ya están presentes en la semilla desde el inicio de su formación, siendo mayor en cultivar negro que en blanco. En base

seca, los valores son altos al inicio y luego de subir y bajar durante la maduración de la semilla, se estabilizan en un valor bajo final. Dos aspectos de interés pueden indicarse. El primero se refiere al contenido de taninos en la primera muestra recolectada. Esta se clasifica en 3 tamaños, encontrándose que las semillas más pequeñas contenían más taninos. La explicación más lógica que se puede dar es que el tanino en el frijol se encuentra en la testa o cubierta (Elías y Col. 1979; Bliss y Col. 1978). Por consiguiente, en las semillas tiernas del primer muestreo, las más pequeñas tenían proporcionalmente al peso del grano mayor cantidad de testa

Esta cantidad de testa disminuye relativamente a la semilla durante la maduración diluyendo de esta manera el tanino. Cuando los valores se expresan en base húmeda, los valores en el negro son inicialmente altos, luego bajan para finalmente sobrepasar ligeramente el valor inicial en semillas internas. Para el blanco el aumento es continuo de tierno o inmaduro a maduro pero los valores son reducidos.

El segundo aspecto se refiere a que los frijoles tiernos indiferentemente de color son verdes y el color se hizo evidente en el muestreo No. 3 (83 días después de la siembra) para el negro y blanco. Esto sugiere cierta independencia entre color de la testa y el contenido de tanino que la semilla produce desde una edad temprana posiblemente como un mecanismo de defensa. Este mecanismo se ha demostrado en la papa y en frutas. Bliss y Col. 1978 en estudio realizado con frijol común corrobora esta independencia al no encontrar relación significativa entre el contenido de tanino y el color de la tes-

ta de la semilla.

En trabajos similares con maicillo, Butler y Col. (1979) indicaron que para una mejor interpretación de los resultados en el cereal era mejor expresar los valores por semilla. En el presente estudio se hizo lo mismo con resultados que indican un aumento continuo para el frijol negro que se parece mucho cuando se expresan en base seca. En el frijol blanco dió valores más altos a los 83 días después de la siembra (tercer muestreo) y luego bajó a los 90 (cuarto muestreo) para finalizar con valores más altos a los 97 días después de la siembra (quinto muestreo). La información sugiere que durante la maduración de la semilla ocurren cambios en el contenido de taninos que no pueden ser explicados a menos que sean reacciones bioquímicas a la fisiología de maduración de la semilla. Sin embargo estas sustancias se acumulan terminando la semilla con valores más altos que los iniciales.

En el presente estudio se trató de buscar alguna explicación haciendo análisis por la polifenol oxidasa, enzima que oxida dichos polifenoles. Sin embargo, la actividad específica fue siempre baja y de una magnitud similar para los dos colores de frijol. Price y Col. (1978) han indicado que los cambios en el contenido de taninos en el sorgo o maicillo se podrían explicar en base a la solubilidad de los mismos o a su reactividad química variable durante la maduración. Es posible que la misma explicación sea aplicable al frijol. Estando los taninos en la testa (Bliss y Col. 1978; Elías y Col. 1979), esta pudo golpearse durante el proceso de catalogar las semillas de acuerdo a tamaño produciendo así polimerización de los tani-

nos por reacciones no enzimáticas que explicarían la variabilidad durante la maduración. Parte de esto podría habersucedido por el rompimiento celular durante el congelado de las muestras.

Otros compuestos medidos fueron el contenido de proteína y el de agua. Como era de esperar el agua disminuyó con la maduración y la proteína aumentó (Elías y Col. 1973). Cuando la proteína se expresó en base seca, se notó una tendencia en disminuir para los dos cultivares de frijol. Estas son tendencias ya bien establecidas para otras semillas y granos durante la maduración (Elías y Col. 1973).

Los estudios deben de continuarse posiblemente tratando las semillas de una manera diferente evitando al máximo dañar la estructura y preferiblemente en semillas de una misma sección en la vaina y solamente en la testa. Así mismo sería conveniente medir la cantidad de taninos o polifenoles por diferentes métodos analíticos, ya que el conocimiento de estas sustancias en el frijol durante la maduración se desconoce.

VIII. CONCLUSIONES

- 1.— Desde las etapas tempranas de desarrollo de la semilla de frijol, se observó la presencia de taninos, tanto en frijol negro como en blanco.
- 2.— La pigmentación de la semilla está relacionada con la cantidad de tanino, ya que en frijol negro se encontró mayor cantidad de tanino que en frijol blanco.
- 3.— Los valores máximos de taninos y de interés nutricional se encontraron en semillas maduras (a los 97 días después de la siembra) ya que es en este estado cuando se consumen para alimentación humana, con excepciones cuando el frijol comun se consume en estado tierno llamado ejote.
- 4.— Las semillas del primer muestreo (70 días después de la siembra) y tamiz 3, tanto en frijol negro como en blanco (base seca) presentaron valores máximos en cuanto a la cantidad de taninos/100 gr. de muestra, debido a que existe mayor cantidad o número de semillas/gr., y en este tamaño (las mas pequeñas) de las semillas, existe mayor cantidad en peso de testa que de cotiledon. Según estudios realizados (Bliss y Col. 1978; Elías y Col. 1979; Marbach and Mayer 1975) se demostró que los taninos se concentran en mayores cantidades en la testa que en el cotiledon.
- 5.— La actividad de la polifenol oxidasa no presentó cambios significativos durante el proceso de maduración de

las semillas, tanto en frijol negro como en blanco.

6. Mejorar la metodología analítica para caracterizar las sustancias polifenolicas presentes en las leguminosas - de grano; así como también el manejo de la muestra.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Alumot, E. y Nachtom, E. (1963) "Tannine and polyphenols in Carob pods (*Ceratonia silicua*)". J. Sci. Food Agric., 14:464-467. 1963.
2. Association of Official Agricultural Chemists. (AOAC) (1970) Washington, D.C. Official methods of the analysis of the A.O.A.C. 11 th ed. Washington, D.C. 1970.1094 p.
3. Bate-Smith, E.C. (1973). "Haemanalysis of tannins" The concept of relative astringency". Phytochemistry. 12:907-912 1973
4. Bliss, F.A. y Ma. y. (1978). "Tannin content and inheritance in common Bean". Crop Sci. 18(2):201-204 - 1978.
5. Bressani, R. (1978) En: "Pulpa de café" Composición, tecnología y utilización. (Editores: Braham, J. E. y Bressani, R.) INCAP. pp 143-150. 1978.
6. Burns, R.E. (1971). Agron. Journal 63:511-512. 1971
7. _____; (1963). "Methods of tannin analysis for forage crop evaluation". Bulletin Technical N.S. 32. Agricultural Experiment Station, University of Georgia, 1963.
8. Butler, L; Price, M. y Stromberg, A. (1979). "Tannin content as a function of Grain maturity in several varie-

ties of *Sorghum bicolor* (L) Moench". Departament of Biochemistry. Purdue University., West Lafayette, Indiana, U.S.A. 21pp. 1979.

9. Conde, M.C. (1974). "Cambios químicos y nutricionales del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) durante el proceso de maduración del grano. Tesis Ing. Agr. Facultad de Agronomía. USAC. 1974.
10. Colowick, S. y Kaplan, O. (1957). "Methods in Enzymology". Vol. III. Academic Pres. Inc. Publishers New York. 1967. pp 441-454. 1967.
11. Davies, D.D. y Giobanelli, J. (1969). "Bioquímica vegetal" Editorial Omega, S.A. Barcelona. 1969 pp 448-463
12. Donnelly, E.D. y Hawkins, G.E. (1955). En: "Plant tannine. Their role in forage quality". Nutr. Abst. and Revs. 44:810. 1974.
13. Elías, L.G.; Conde, A; y Bressanni, R. (1973). "Effect of germination and maturation on the nutritive value of common beans" (*Phaseolus vulgaris*, L.). EN: Nutritional aspects of common beans and other legume seeds as animal and human foods. Reunion celebrada en Ribeirao Preto, Brasil, del 6-9 de noviembre de 1973. Editor Warner G. Jaffé, pp 139-151.
14. _____; De Fernández, Dolores y Bressani, R. (1979). "Posible effects of seed coat polyphenolics on the nutritional quality of bean protein". J. Food Sci.

15. Flurkey, W. y Jen, J. (1978). "Peroxidase and polyphenol oxidase activities in developing peaches". J. Food Sci. 43:1826-1831. 1978.
16. Frear, D.E. (1950). "Tratado de quimica Agrícola".Tomo II. Salvat Editores S.A. Barcelona, Madrid, pp.2, 29. 40.
17. Gomez, R. (1970). "Importancia del frijol en la America Latina y variabilidad en su composicion química".EN: P.C.C.M.C.A. XVI Reunion Anual celebrada en Antigua Guatemala, C. Arias. Editor. pp 9-15. 1970.
18. Gonzalez de Fernández, Dolores (1975). "Estudio sobre las posibles relaciones entre los pigmentos presentes en la cáscara de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y el valor nutritivo de éste". Tesis (Magister Scientifcae)- Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, INCAP/CESNA. Guatemala, 1975. 60p.
19. Harel, E. y Mayer, A.M. (1970). 'Changes in the levels of catechol oxidase and laccase activity in developing peaches". J. Sci, Food Agric., 21:542-544. 1970.
20. _____; y Mayer, A.M. (1971). "Partial purification and properties of catèchol oxidase in Grapes" Phytochemistry, 10:17-22. 1971.

21. Linares, Sonia y Mendoza, Concepción. (1979). "Evaluación de estándares nutricionales y tecnológicos de 20 variedades de *Phaseolus vulgaris* L. Tesis (Magister Scientifiae)- Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, INCAP/CESNA. Guatemala, 1979. 90p.
22. Marbach, I. y Mayer, A.M. (1975). "Changes in catecol oxidase and permeability to water in seed coats of *pisum elatius* during seed development and maturation". *Plant Physiol.* 56:93-96. 1975.
23. ____; y Mayer, A.M. (1974). "Permability of seed - cost to water as related to drying conditions and metabolism of phenolics". *Plant Physiol.* 54:817-820. 1974.
24. Maymone, B. y Battaglini, A. (1953). EN: "Plant tannins Their role in forage quality". *Nutr. Abst. and Revs.* 44: 810. 1974
25. Meregalli, A. (1954). EN: "Plant tannins-Their role in forage quality". *Nutr. Abst. and Revs.* 44:810. 1974.
26. Orozco, S.H. (1977). "Valor nutritivo de las leguminosas y posibilidades de su mejora". Instituto de ciencia y tecnología agrícola. *Noticta.* No. 27. Guatemala, agosto de 1977.
27. Price, M.; Butler, L.; Rogler, J. y Featherston, W.R. (1979). "Overcoming the nutritionally harmful effects

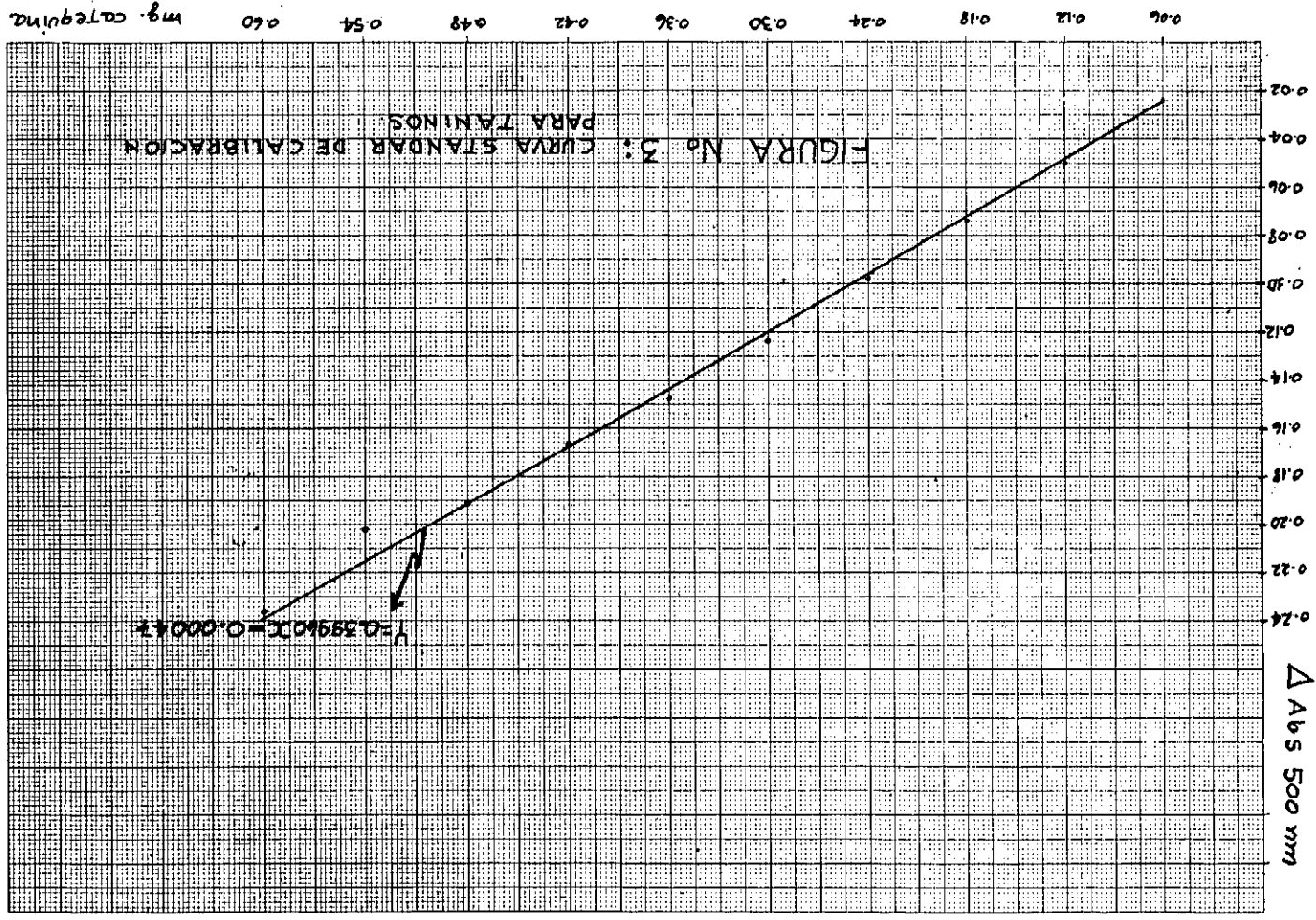
- of tannin in Sorghum Grain by treatment with: -
inexpensive chemicals". J. Agric. Food Chem. -
27:441-445. 1979.
28. _____; y Butler, G. (1977). "Rapid visual estimation
and spectrophotometric determination of tannin con-
tent of Sorghum Grain". J. Agric. Food Chem. -
25: 1268-1273. 1977
29. _____; Scoyoc, S. y Butler, L. (1978). "A critical eva-
luation of the vanillin reaction as an assay for -
tannin in Sorghum Grain", J. Agric. Food Chem -
26:1215-1218
30. Pridham, J.B. (1963) (Editor). (1963). "Enzyme chemis-
try of phenolics compounds". Oxford. U.K. Perma-
mon.
31. Reyes, P. y Luh, B.S. (1960). "Characteristics of brow-
ning enzymes in Fay Elberta Freestone Peaches".
Food Technology. pp 570-574. 1960.
32. Swain, T. (1965). "The tannins". EN: "Plant biochemis-
try" J. Bonner y J.E. Verher editores. New York
USA. Academic Press. pp 553-379. 1965.
33. Schanderl, S.H. (1970). EN: "Methods in food analisis".
Joslyn, M.A. Editor. London, U.K. Academic Press
pp 701.

34. Whitaker, J. (1972). "Principles of enzymology for the food sciences". Editorial Marcel Dekker, Inc. New York, 1972. pp 571-582. 1972.
35. White, T. (1957). J. Sci. Food Agric. 8:377.
36. Williams, A.H. (1957). "The simpler phenolic substances of plants". J. Sci. Food Agric. 8:385-389. 1957

Vo.Bo.

Licda. Marina G. de Jerez
Biblioteca Central.

X. APENDICE



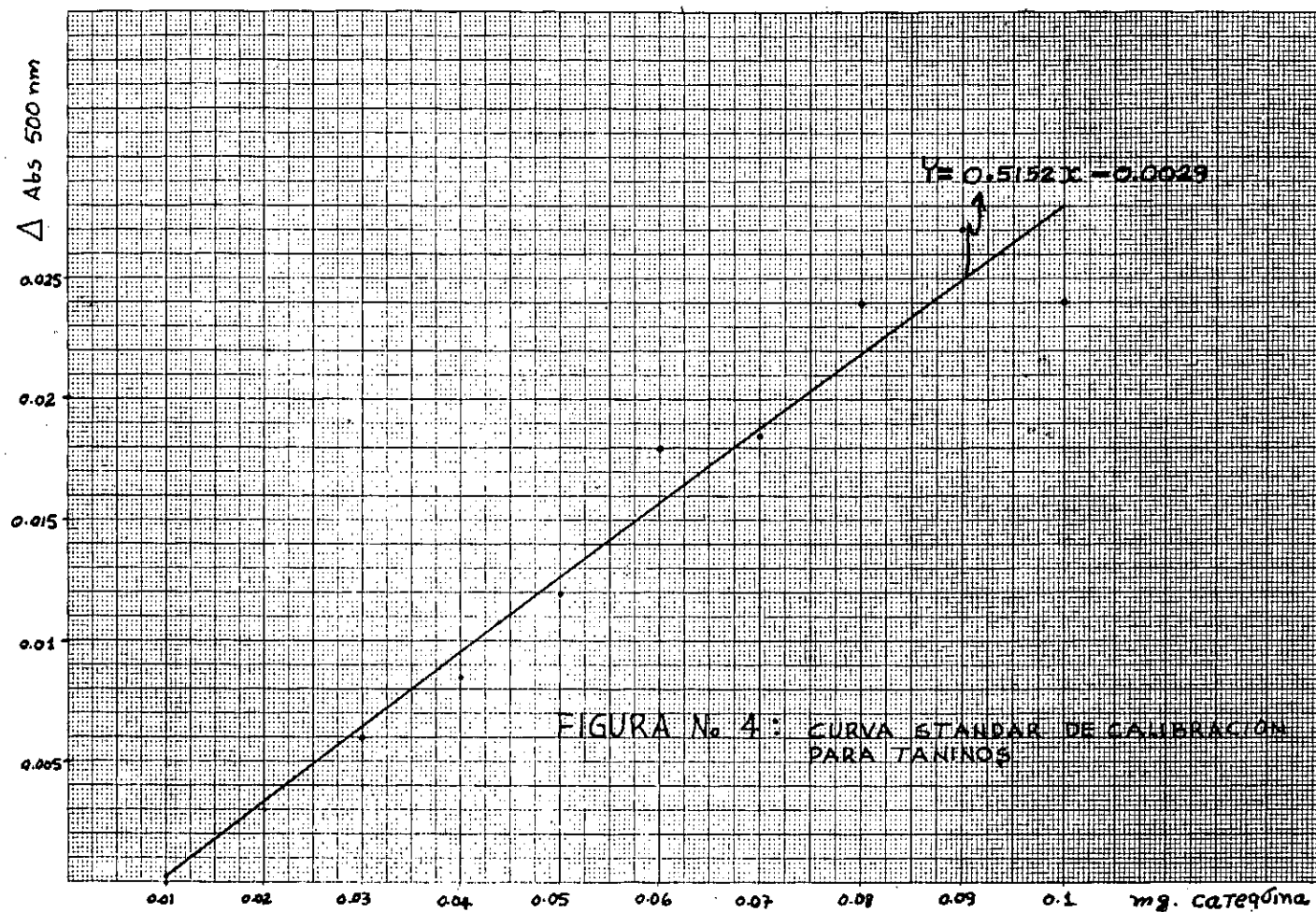


FIGURA N.º 4: CURVA STANDARD DE CALIBRACION PARA TANINOS

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

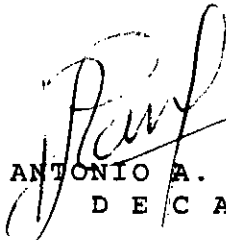
Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia

Asunto

"IMPRIMASE"


DR. ANTONIO A. SANDOVAL S.
D E C A N O

