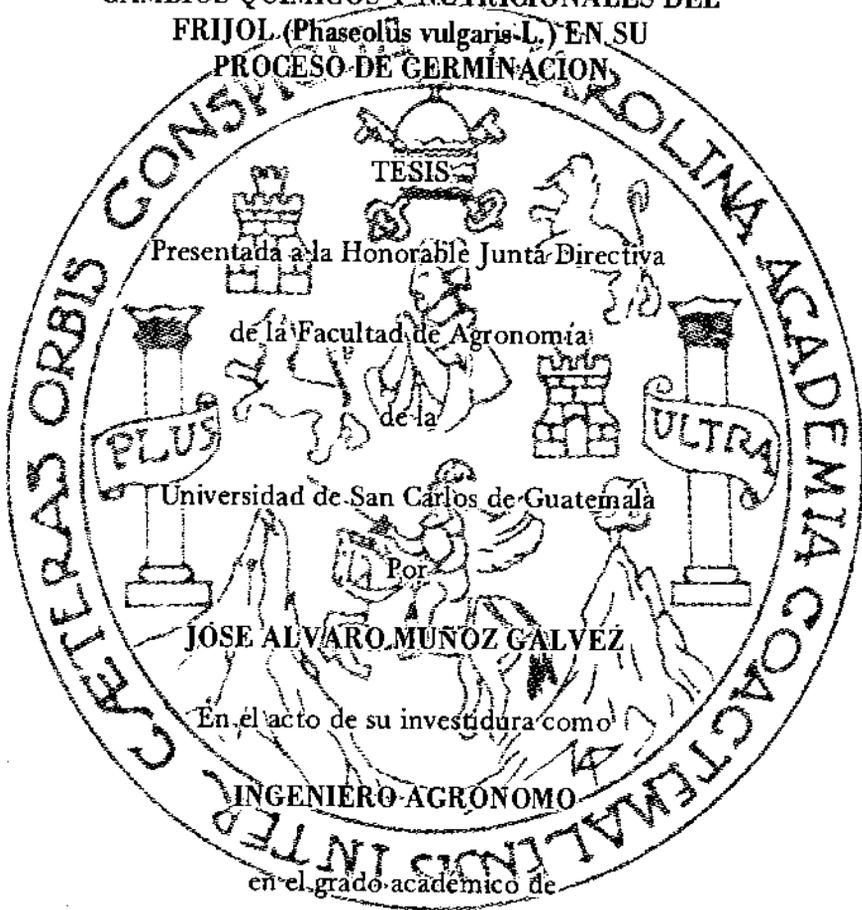


04
T(470)
C. 3

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA

CAMBIOS QUIMICOS Y NUTRICIONALES DEL
FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) EN SU
PROCESO DE GERMINACION



LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Guatemala, Abril de 1974. BIBLIOTECA
DEPARTAMENTO DE TESIS-REFERENCIA

Pedro Muñoz, Junio 24 1974

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
RECTOR

Dr. Roberto Valdeavellano

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE AGRONOMIA

Decano:	Ing. Agr. Edgar L. Ibarra
Vocal 1o.:	Ing. Agr. Salvador Castillo O.
Vocal 2o.:	Ing. Agr. Ronaldo Prado
Vocal 3o.:	Ing. Agr. Carlos Guillermo Aldana
Vocal 4o.:	P.A. Napoleón Medina
Vocal 5o.:	P.A. Miguel Carballo
Secretario:	Ing. Agr. Oswaldo Porres

TRIBUNAL QUE PRACTICO EL EXAMEN
GENERAL PRIVADO

Decano:	Ing. Agr. Edgar L. Ibarra
Examinador:	Ing. Agr. Marco A. Curley
Examinador:	Ing. Agr. Rufino Quan
Examinador:	Ing. Agr. Salvador Castillo
Secretario:	Ing. Agr. Oswaldo Porres

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12

Avenida Pineda No. 1500

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
GUATEMALA

RECIBIDO 323
1.1 MAR. 1974

HORA: 5 OFICINA No.
CONTESTAR FECHA

Recepción de
A punto

Guatemala, 11 de Marzo de 1974.

Señor Decano de la Facultad de Agronomía
Ingeniero Edgar Lionel Ibarro
Presente.

Señor Decano:

Atentamente me permito manifestarle que he asesorado al Br. JOSE ALVARO MUÑOZ GALVEZ en la elaboración de su Tesis de Grado para obtener el título de Ingeniero Agrónomo.

Dicho trabajo intitulado "CAMBIOS QUIMICOS Y NUTRICIONALES DEL FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L) EN SU PROCESO DE GERMINACION", llena ampliamente los requisitos para ser aceptada como Tesis de Grado y constituye efectiva aportación a las ciencias agrícolas en nuestro medio.

Sin otro particular me suscribo como su atento servidor.

"D Y ENSEÑAD A TODOS"



Ing. Carlos F. Estrada Castilla.
DIRECTOR DEPARTAMENTO
ESTACIONES EXPERIMENTALES.

CFEC/mur.

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de presentar a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado "CAMBIOS QUIMICOS Y NUTRICIONALES DEL FRIJOL (*phaseolus vulgaris* L.) EN SU PROCESO DE GERMINACION".

Con el propósito de llenar en el presente trabajo el último requisito estipulado en los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, para optar el título de INGENIERO AGRONOMO en el grado de Licenciado en Ciencias Agrícolas.

Al escribir el presente trabajo pretendo contribuir aún en pequeña parte en cuanto a investigaciones agrícolas se refiere.

Sin otro particular, me suscribo de ustedes, deferentemente.

José Alvaro Muñoz Gálvez

ACTO QUE DEDICO:

A DIOS

A MIS PADRES:

Alvaro Muñoz P.
Margarita Gálvez de Muñoz

A MI ESPOSA:

Lillian

A MI HIJO:

Alvaro José

A MIS HERMANOS Y CUÑADOS

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

A MIS PADRINOS DE GRADUACION.

TESIS QUE DEDICO:

A la Facultad de Agronomía

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

A mis compañeros de Promoción especialmente a Alfredo Conde
y Alfonso Velásquez.

AGRADECIMIENTO

Quiero dejar constancia de mi agradecimiento a todo el personal de Química Agrícola del INCAP, por su ayuda en todo momento recibida.

En especial al Dr. Ricardo Bressani y Dr. Luiz Gonzaga Elías, pues su asesoría y orientación fue de un alto valor en la realización de este trabajo.

Así mismo para todas aquellas personas que me brindaron su desinteresada colaboración, como Don Lauro Rivera, Carlos Urrutia, Ing. Gabriel de la Fuente y muy especialmente a los compañeros y amigos Ingenieros: Alfredo Conde y Alfonso Velásquez.

CONTENIDO

1. INTRODUCCION
2. REVISION DE LITERATURA
 - 2.1 Proceso germinativo
 - 2.2 Valor nutritivo
3. MATERIALES Y METODOS
 - 3.1 Procedencia de las muestras
 - 3.2 Siembra
 - 3.3 Diseño experimental
 - 3.4 Análisis estadísticos
 - 3.5 Tratamiento de las muestras
 - 3.6 Solubilidad de nitrógeno en diferentes solventes
 - 3.7 Análisis Químicos
 - 3.8 Experimentos con ratas DIETAS
 - 3.9 Índice de eficiencia protéica
 - 3.10 Inhibidores de crecimiento
 - 3.11 Digestibilidad
 - 3.12 Extracción de Páncreas
4. RESULTADOS
5. DISCUSION
6. RESUMEN
7. BIBLIOGRAFIA
8. APENDICES

CUADROS Y FIGURAS PRESENTADOS

1. Diseño estadístico de los análisis químicos
2. Diseño estadístico de los análisis biológicos
3. Composición porcentual de las dietas
4. Composición Química proximal (base fresca)
5. Composición Química proximal (base seca)
6. Análisis estadísticos; composición Química proximal (base seca)
7. Composición de Minerales (base fresca)
8. Composición de Minerales (base seca)
9. Análisis estadísticos; minerales (base seca)
10. Contenido de lisina, aminoácidos azufrados totales, metionina y cistina individualmente y aminoácidos libres (frijol crudo)
11. Análisis estadísticos; metionina, cistina, Epsilon amino lisina y aminoácidos libres.

FIGURA No. 1

Fraccionamiento de proteína

12. Análisis estadísticos; fraccionamiento de proteína

FIGURA No. 2

Relación entre inhibidores de crecimiento y sobrevivencia de ratas. Peso de páncreas

13. Valor nutritivo (Frijol cocido)
14. Análisis estadísticos del valor nutritivo (Digestibilidad, ganancia en peso, Índice de eficiencia protéica e inhibidores de crecimiento).

FIGURA No. 3

Tendencias seguidas por los aminoácidos libres totales digestibilidad, inhibidores de crecimiento, proteína, Índice de eficiencia protéica y aminoácidos azufrados totales.

APENDICE

Fotografías de las semillas a diferentes etapas de germinación.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Proceso germinativo:

En condiciones favorables a la imbibición de agua por la semilla, siguen varias actividades entre las cuales las más significativas son que el protoplasma se hidrata y sus enzimas empiezan a funcionar; el almidón es digerido y se transforma en azúcar, los lípidos en compuestos solubles y las proteínas en aminoácidos.

La disponibilidad de éstas sustancias permite la liberación de energía por el proceso de la respiración, el traslado de alimentos al embrión y el crecimiento de éste.

El humedecimiento de las semillas hace que la respiración aumente rápidamente y cuando la respiración está en marcha el índice respiratorio se ha elevado cientos de veces. A consecuencia del aumento de la actividad enzimática sobre el alimento y la energía disponibles a la semilla en germinación, las células embrionarias empiezan a alargarse y se pone en marcha el desarrollo de la nueva planta que había empezado con la fecundación.

La semilla de frijol no tiene endospermo y el alimento que nutre a la plántula está acumulado en los cotiledones. El hipocotilo se alarga y arquea. El ápice de este arco es la primera parte de la plántula que aparece y al crecer se endereza y levanta ambos cotiledones en el aire. Entre tanto la plúmula, que está entre los cotiledones, ha empezado a crecer originando las hojas verdaderas y la porción de tallo que hay sobre los cotiledones. Para emerger, los cotiledones y la plúmula del frijol no son empujados por el hipocotilo sino que éste al crecer tira de ellos, evitándose así el daño al ápice vegetativo. Este y otros mecanismos protectores del ápice del tallo son comunes en la germinación de la semilla. Por último el alimento almacenado en

los cotiledones es digerido gradualmente y transferido a otras regiones de la plántula que crece rápidamente.(31)

2.2 Valor nutritivo:

Revisando literatura en lo que concierne a la germinación se han encontrado resultados contradictorios. Algunos investigadores han informado un aumento en el valor nutritivo durante la germinación (12,9) otros indican disminución o ningún cambio (21,8) mientras que en otros estudios los resultados no han sido concluyentes. (22)

La mayor parte de investigaciones acerca del valor nutritivo de leguminosas comestibles han sido llevadas a cabo sobre la semilla madura, posiblemente porque en este estado son generalmente consumidas.

Los resultados han indicado que las semillas de leguminosas son relativamente de bajo valor nutritivo, ello se atribuye a la presencia de factores antinutricionales termolábiles entre los cuales se incluyen inhibidores de tripsina, hemaglutininas, y otros. (27,19); a su deficiencia en el contenido de aminoácidos azufrados (5,11) y a la baja digestibilidad de su proteína (4). A pesar de estos descubrimientos algunos investigadores (4) han encontrado diferencias en el valor nutritivo entre especies como también entre variedades o cultivares de la misma especie.

Estudios realizados en la India con diferentes variedades de leguminosas, 48 horas antes y 48 horas después de la germinación, indicaron un aumento en el valor biológico para las muestras de *Cicer arietinum*, *Phaseolus mungo* y *Lens esculenta*, mientras que se encontró una disminución en las muestras de *Phaseolus radiatus* y *Pisum sativum* (3). Las causas del incremento o disminución en el valor nutritivo de las proteínas de leguminosas durante la germinación no son conocidas; algunos estudios sugieren que este cambio no depende de la presencia de los inhibidores de tripsina, ya que según algunos autores éstos no cambian durante la germinación. (21)

Kakade y Evans (21) determinaron en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que en el remojo por 1-4 días se destruía la actividad de las hemaglutininas y de los inhibidores de tripsina en un 75 y 38o/o respectivamente, y que el contenido protéico decrecía. Además, indicaron que el frijol presentaba un incremento progresivo en el contenido de proteína y en la actividad de los inhibidores de tripsina durante la germinación, pero la actividad de las hemaglutininas no mostraba cambios.

Otros estudios han indicado que todas las vitaminas exceptuando el ácido fólico se incrementan durante la germinación. (3)

Recientemente Palmer y col. (26) estudiando el efecto de la germinación sobre el valor nutritivo y el contenido de inhibidores de tripsina en el frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) encontraron que tanto el valor nutritivo como el contenido de inhibidores de tripsina aumentaban durante la germinación.

Muy pocos estudios se han llevado a cabo sobre el valor nutritivo de la semilla de leguminosas durante las diferentes etapas fisiológicas de la semilla en su proceso germinativo.

Es de esperar que la mejor comprensión de los procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren en los diferentes estados de desarrollo de la semilla puede ser útil para explicar los resultados obtenidos con frijol seco, y esto pueda contribuir a mejorar la utilización de la proteína a través de la selección genética apropiada.

3. MATERIALES Y METODOS:

El material estudiado fue el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de la variedad S19N a diferentes etapas de germinación de la semilla.

3.1 Procedencia de las muestras:

La muestra fue obtenida de la finca "San Antonio Pachali" centro experimental del INCAP. Dicha finca está ubicada en San Raymundo Sacatepéquez, departamento de Guatemala a una latitud de $14^{\circ}43'$, una longitud de $90^{\circ}39'$ y una altura sobre el nivel del mar de 1845 metros, localizada en la zona montano bajo húmeda. La distancia a que está de la capital es de 41 kms. Los suelos pertenecen a la serie Guatemala fase pendiente variando el suelo de franco arcilloso casi típico, a una capa muy delgada de suelo franco arcilloso, café amarillento. (30)

3.2 Siembra:

La siembra se efectuó el primero de junio de 1972 cosechándose el 8 de septiembre del mismo año. El período vegetativo del frijol oscila entre 90 y 110 días dependiendo del clima, suelo, fertilización, etc. Las distancias de siembra fueron de 50 cms. entre surcos y 10 cms. entre plantas colocando 2 semillas por postura, no se efectuó fertilización desde la siembra hasta la cosecha. Después de cosechado el frijol estuvo almacenado por espacio de 40 días en condiciones ambientales. Antes de inducir la germinación se llevaron a cabo pruebas de germinación tanto en frijol fresco, como en el secado al sol por espacio de dos días, en ambos casos se encontró un 99o/o de germinación, haciéndose cinco determinaciones para cada uno de los dos tratamientos. Con dichas pruebas se confirmó que el frijol no tuvo período de latencia y con base a éste elevado porcentaje de germinación se inició el trabajo experimental.

3.3 Diseño Experimental:

El diseño utilizado fue el de "bloques al azar" con tres réplicas consistiendo los tratamientos en períodos de 0,3,6 y 9 días de germinación. Los cuadros 1 y 2 muestran los diseños experimentales para los análisis químicos y pruebas biológicas respectivamente.

CUADRO No. 1

DISEÑO PARA LOS ANALISIS QUIMICOS

BLOQUES AL AZAR

TRATAMIENTOS	REPLICA I	REPLICA II	REPLICA III
0 DIAS	A1	B1	C1
3 DIAS	A2	B2	C2
6 DIAS	A3	B3	C3
9 DIAS	A4	B4	C4

CUADRO No. 2

DISEÑO ESTADISTICO Y DISTRIBUCION DE
LAS RATAS. ANALISIS BIOLOGICO. 1

frijol cocido				frijol crudo			
a1	a2	a3	a4	a1	a2	a3	a4
a1	a2	a3	a4	a1	a2	a3	a4
b1	b2	b3	b4	b1	b2	b3	b4
b1	b2	b3	b4	b1	b2	b3	b4
c1	c2	c3	c4	c1	c2	c3	c4
c1	c2	c3	c4	c1	c2	c3	c4
0	3	6	9	0	3	6	9 (días de germi- nación)

1. Las columnas representan un mismo tratamiento replicado tres veces (6 ratas macho/tratamiento). Las filas representan los 4 diferentes tratamientos.

3.4 Análisis estadísticos:

Se hizo un análisis de varianza para las muestras de frijol crudo y cocido, en los análisis químicos y biológicos. Asimismo se calculó las ecuaciones de regresión, correlacionando el índice de eficiencia proteínica (IEP) y los aminoácidos azufrados totales, IEP y cistina, IEP y metionina e IEP y lisina.

3.5 Tratamiento de las muestras:

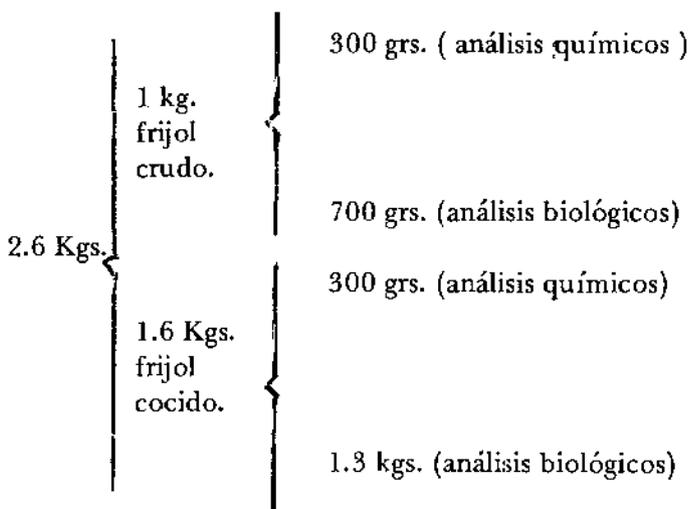
Para el presente estudio se tomaron muestras de 0,3,6 y 9 días de germinación. Para cada tratamiento se utilizó 10.4 Kgs. de muestra divididos en lotes de 2.6 Kgs. cada uno. Seguidamente fueron puestos a germinar completamente al azar. Para la siembra de dicho frijol y con el objeto de inducirlo a germinar se usaron bandejas de metal de 95X118 cms. (una bandeja/muestra)

previamente lavadas con detergente y agua corriente, forradas posteriormente con plástico, aplicándoles alcohol para minimizar cualquier ataque de hongos y bacterias que pudiera existir. Se usaron toallas de germinación de papel esterilizadas (en autoclave a 121°C y 16 lbs. de presión durante 15 minutos). El agua aplicada a la semilla fue hervida previamente al riego para obtener un menor riesgo por contaminaciones; el riego a la semilla se efectuó 2 veces diarias: a las 8 de la mañana y a las seis de la tarde. La germinación se efectuó en cuarto oscuro a una temperatura media de 23°C (ver fotografías en apéndice).

Al sacar las muestras de las bandejas fueron puestas inmediatamente en refrigeración.

Luego cada muestra se dividió en dos partes; la primera fue liofilizada y la segunda cocida en autoclave a 121 °C y 16 lbs. de presión por 15 minutos.

Posteriormente las muestras se secaron en un horno de aire caliente a una temperatura de 50°C por un período de 22 horas. Todas las muestras fueron molidas en un micromolino wiley con un tamiz de 40 mallas. Cada muestra de 2.6 Kgs. de frijol fue dividida para análisis químicos y biológicos de acuerdo al esquema que se muestra a continuación:



3.6 Solubilidad de nitrógeno en diferentes solventes:

La solubilidad de nitrógeno fue determinada de acuerdo al método descrito por Hasbun con algunas modificaciones (16). Para efectuar estos análisis se utilizaron 2.5 gramos de las muestras de frijol crudo previamente molido. Las diferentes muestras fueron extraídas con 100 ml. de solvente por una hora con agitación continua y luego centrifugadas por 10 minutos a 2500 rpm. para separar el extracto del residuo. El residuo de la primera extracción fue sometido a una segunda extracción con otro solvente, efectuándose el mismo procedimiento anteriormente descrito para separar extracto-residuo.

En total se trabajó con cuatro diferentes solventes quedando al final sólo un residuo, es decir que el fraccionamiento fue continuo. La secuencia usada para las diferentes extracciones fue de NaOH 0.01N, KCl al 5o/o, Agua y Etanol al 70o/o. Al final los diferentes extractos y el residuo fueron analizados para determinar su contenido de nitrógeno por el método de Kjeldhal. (2)

3.7 Análisis químicos:

La humedad, el nitrógeno, el extracto etéreo, la fibra cruda, las cenizas y el calcio fueron determinados por el método de la AOAC. (2) La cantidad de fósforo se determinó por la técnica de Fiske y Subarrow (14) modificado por Lowry y López (23); en cuanto al hierro se usó el procedimiento de Jackson (18) y Moss y Mellon (25).

La lisina fue estimada por el método de Conkerton y Frampton. (7) La metionina y la cistina fueron determinadas por métodos microbiológicos utilizando medio Difco (Difco Laboratories, Detroit, Michigan) y *Leuconostoc mesenteroides* P-60. Los aminoácidos libres fueron determinados como alpha amino nitrógeno, de acuerdo a la técnica descrita por Fisher y col. (13).

3.8 Experimentos con ratas:

DIETAS:

Se realizaron dos experimentos biológicos; el primero se llevó a cabo con el propósito de determinar el efecto de los inhibidores de crecimiento y/o factores antifisiológicos sobre el crecimiento de ratas jóvenes usándose en éste caso las muestras crudas. En otra prueba biológica se determinó el índice de eficiencia protéica (IEP) y la de digestibilidad de la proteína en las muestras cocidas. En ambos casos las muestras de frijol deshidratado fueron agregadas de modo a proveer cerca del 100/o de Proteína a las dietas.

Estas consistían en: Mezcla mineral 4.00/o (17), aceite de hígado de bacalao 1.00/o, aceite de soya 50/o y suficiente almidón de maíz para alcanzar el 1000/o. Todas las dietas fueron suplementadas con 5 ml. de solución de vitaminas (24). Las ratas usadas fueron de la cepa Wistar de la Colonia INCAP. Los detalles de la composición de las dietas empleadas en los ensayos biológicos se encuentran en el cuadro 3.

CUADRO 3**COMPOSICION PORCENTUAL DE LAS DIETAS. FRIJOL CRUDO**

	A1	B1	C1	A2	B2	C2	A3	B3	C3	A4	B4	CA
harina de frijol	50.9	50.0	50.0	44.0	45.0	46.0	42.5	42.0	46.0	38.4	41.0	41.0
minerales	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
aceite de soya	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
aceite de bacalao	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
almidón de maíz	39.1	40.0	40.0	46.0	45.0	45.0	47.5	48.0	44.0	51.6	49.0	49.0
total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
solución de vitaminas (ml)	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0

3.9 Índice de eficiencia proteica (I.E.P.):

Se usaron 6 ratas macho por tratamiento, distribuídas al azar, por peso, entre grupos experimentales y la diferencia promedio entre grupos (tratamientos) no difirió en más de 1 gramo. Los animales fueron alojados en jaulas individuales con fondos levantados de tela metálica y se alimentaron *ad-libitum* por un período de 28 días, exceptuándose el caso de las muestras crudas donde el período experimental dependió de la sobrevivencia de las ratas. Los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento durante todo el tiempo que duró el ensayo. La ganancia en peso y el alimento consumido fueron registrados semanalmente. Al final del período experimental se calculó el IEP (grs. peso ganado/grs. de proteína consumida)

3.10 Inhibidores de crecimiento:

Se estimó la concentración de inhibidores de crecimiento calculando el porcentaje de sobrevivencia de los animales alimentados con las diferentes muestras de frijol crudo durante el período experimental de 28 días.

3.11 Digestibilidad:

La digestibilidad de la proteína se determinó al final del experimento de IEP. Para este propósito los animales permanecieron en las mismas jaulas y se les suministró las mismas dietas marcadas con carmín para diferenciar las heces excretadas hasta el período de IEP, (heces negras) y el de digestibilidad en que las heces aparecieron marcadas de rojo. El período de balance fue de siete días en cada dieta experimental; las heces fueron recolectadas diariamente y almacenadas bajo refrigeración, secadas e inmediatamente pesadas y molidas en un micromolino Wiley con un tamiz de 40 mallas. Se determinó nitrógeno por el método de Kjeldhal (2).

La digestibilidad aparente fue calculada mediante la fórmula:

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
BIBLIOTECA
DEPARTAMENTO DE TESIS-REFERENCIA

$$\frac{(\text{Nitrógeno ingerido} - \text{nitrógeno fecal} \times 100)}{\text{nitrógeno ingerido}} = \text{digestibilidad aparente}$$

3.12 Extracción de páncreas:

Se disectó el páncreas de todos los animales usados en los experimentos biológicos. En el caso de las ratas alimentadas con las muestras de frijol crudo, se obtuvo este órgano a medida que los animales morían. En el caso del frijol cocido las ratas fueron sacrificadas después del período de digestibilidad. En ambos casos se pesó el páncreas y dicho peso se expresó como porcentaje (base húmeda del peso total del animal.)

4. RESULTADOS:

La composición química promedio del frijol a diferentes estados fisiológicos de germinación en base fresca se muestra en el cuadro 4.

Como puede apreciarse, se encontró un incremento marcado de agua durante la germinación y una disminución en la cantidad de grasa, proteína, fibra cruda y cenizas.

La cantidad de proteína decreció de 20.0 a 4.8 y el agua se incrementó de 16.6 a 82.1 grs.o/o. El cuadro 5 muestra los mismos nutrientes calculados en base seca, indicando que sobre esta base no se encontró un aumento en la cantidad de los nutrientes. Los análisis de varianza llevados a cabo con estos resultados se muestran en el cuadro 6. Como puede apreciarse se encontró diferencia significativa ($P \leq 0.01$) entre tratamientos para la humedad, grasa y proteína, mientras que en el caso de la fibra cruda se encontró significancia al nivel del 5o/o

CUADRO 4

COMPOSICION QUIMICA DEL FRIJOL COMUN
(Phaseolus vulgaris, L.) en LAS DIFERENTES
FASES FISIOLÓGICAS DE GERMINACION.

FRIJOL CRUDO (BASE FRESCA)

días de germinación Humedad o/o grasa o/o fibra cruda o/o proteína o/o cenizas o/o

0 DIAS

Repetición 1	17.84	0.50	4.84	19.62	3.99
Repetición 2	16.34	0.70	6.48	20.06	3.70
Repetición 3	15.66	1.06	4.51	20.09	3.70
Promedio	16.61	0.75	5.3	19.92	3.79

3 DIAS

Repetición 1	56.8	0.86	2.28	10.63	1.87
Repetición 2	56.8	0.87	1.54	10.61	1.70
Repetición 3	56.8	1.02	2.27	10.39	1.73
Promedio	56.8	0.92	2.03	10.54	1.77

6 DIAS

Repetición 1	69.4	0.65	1.80	7.88	1.24
Repetición 2	69.4	0.66	1.52	7.76	1.29
Repetición 3	69.4	0.74	2.15	7.33	1.18
Promedio	69.4	0.68	1.82	7.66	1.24

9 DIAS

Repetición 1	82.1	0.37	1.39	5.07	0.88
Repetición 2	82.1	0.43	1.70	4.68	0.74
Repetición 3	82.1	0.44	1.71	4.68	0.61
Promedio	82.1	0.41	1.60	4.81	0.74

CUADRO 5

COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL DEL FRIJOL
COMUN (*Phaseolus vulgaris*, L.) EN LAS
DIFERENTES FASES FISIOLÓGICAS DE GERMINACION.

FRIJOL CRUDO. BASE SECA

días de germinación	Humedad o/o	grasa o/o	fibra cruda o/o	proteína o/o	cenizas o/o
0 DIAS					
Repetición 1	17.84	0.62	5.89	23.88	4.86
Repetición 2	16.34	0.84	7.74	24.12	4.42
Repetición 3	15.66	1.26	5.38	23.81	4.39
Promedio	16.61	0.90	6.33	23.90	4.55
3 DIAS					
Repetición 1	7.76	1.99	5.29	24.62	4.33
Repetición 2	8.75	2.02	3.59	24.56	3.94
Repetición 3	10.43	2.36	5.26	24.06	4.01
Promedio	8.98	2.12	4.70	24.40	4.09
6 DIAS					
Repetición 1	8.45	2.14	5.88	25.75	4.04
Repetición 2	4.22	2.17	4.96	25.37	4.20
Repetición 3	9.18	2.41	7.04	23.96	3.85
Promedio	8.28	2.24	5.96	25.00	4.03
9 DIAS					
Repetición 1	6.76	2.09	7.75	28.31	4.93
Repetición 2	7.62	2.38	9.48	26.12	4.11
Repetición 3	6.96	2.47	9.57	26.12	3.43
Promedio	7.11	2.31	8.93	26.80	4.15

CUADRO 6

COMPONENTES DE VARIANZA

MUESTRAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris* L.)
 COMPOSICION QUIMICA PROXIMAL.
 BASE HUMEDA-FRIJOL CRUDO

Fuente	GL	Humedad	Grasa	Fibra Cruda	Cenizas	Proteína
Total	11	18.43	0.37	3.08	0.20	0.10
Repeticiones	2	1.88	0.13	0.32	0.62	0.03
Tratamientos	3	60.49**	1.26**	7.57	0.04	0.31**
Error	6	2.91	0.01	1.75	0.14	0.02

* significativo, $p \leq 0.05$

** significativo, $p \leq 0.01$

El cuadro 7 muestra la composición de minerales de las muestras durante la germinación. De una manera similar que con los otros nutrientes, los resultados indican que al brotar el hipocotilo en la semilla disminuyeron las cantidades de calcio, fósforo y hierro expresadas en base fresca. El cuadro 8 muestra el contenido de calcio, fósforo y hierro de las muestras de frijol crudo calculadas en base seca. En este caso, los análisis estadísticos que se muestran en el cuadro 9 indican que de los tres minerales analizados sólo se encontró diferencia significativa ($P \leq 0.01$) entre tratamientos en el caso del hierro.

CUADRO 7

COMPOSICION MINERAL DEL FRIJOL COMUN
(Phaseolus vulgaris, L.) EN LAS
DIFERENTES FASES FISIOLOGICAS DE GERMINACION

FRIJOL CRUDO, BASE FRESCA

Días de germinación	Ca mg/100g	P mg/100g	Fe mg/100g
0 DIAS			
Repetición 1	208	441	7.69
Repetición 2	278	484	7.00
Repetición 3	114	506	6.89
Promedio	200	477	7.19
3 DIAS			
Repetición 1	93.31	219	2.24
Repetición 2	109.72	228	2.13
Repetición 3	73.0	196	2.75
Promedio	92.0	214	2.4
6 DIAS			
Repetición 1	77	141	1.47
Repetición 2	77	158	1.75
Repetición 3	71	147	2.12
Promedio	75	148	1.78
9 DIAS			
Repetición 1	53	101	1.15
Repetición 2	40	98	1.20
Repetición 3	49	119	1.31
Promedio	47	106	1.22

CUADRO 8

COMPOSICION MINERAL DEL FRIJOL COMUN
(*Phaseolus vulgaris*, L.) EN LAS
DIFERENTES FASES FISIOLOGICAS DE GERMINACION.

FRIJOL CRUDO, BASE SECA

Días de germinación	Ca mg/100g	P mg/100g	Fe mg/100g
0 DIAS			
Repetición 1	253	537	9.36
Repetición 2	332	578	8.36
Repetición 3	135	600	8.18
Promedio	240	572	8.63
3 DIAS			
Repetición	216	506	5.19
Repetición 2	254	527	4.93
Repetición 3	170	454	6.36
Promedio	213	495	5.49
6 DIAS			
Repetición 1	252	462	4.80
Repetición 2	251	517	5.71
Repetición 3	233	480	6.93
Promedio	245	486	5.81
9 DIAS			
Repetición 1	294	563	6.43
Repetición 2	221	550	6.71
Repetición 3	271	663	7.30
Promedio	262	592	6.81

CUADRO 9

COMPONENTES DE VARIANZA.

MUESTRAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*, L.)

MINERALES – MUESTRAS CRUDAS

Fuente	G.L.	Calcio	Hierro	Fósforo
Total	11	2199.2	33.02	3036.5
Repet.	2	3426.6	0.27	854.1
Trat.	3	1563.3	110.43**	6699.7
Error	6	2107.2	0.90	1932.3

* significativo, $p \leq 0.05$

** significativo, $p \leq 0.01$

El contenido de lisina, metionina y cistina, así como la suma de los aminoácidos azufrados y los valores de los aminoácidos libres se muestran en el cuadro 10. Como puede observarse, se encontró una disminución en el caso de la lisina y cistina, aminoácidos azufrados totales y aminoácidos libres; no así en el caso de la metionina que permaneció relativamente constante. Los análisis estadísticos que se detallan en el Cuadro 11 confirman las observaciones anteriores indicando una disminución significativa ($P \leq 0.01$) en el caso de la cistina y de los aminoácidos libres, y en el caso de la lisina al nivel del 50/o. Estos datos también muestran que no hubo un cambio significativo en el contenido de metionina durante las diferentes etapas de germinación.

La figura No. 1 presenta los resultados de extracción continua de la proteína del frijol. Se observa que la solubilidad en

NaOH 0.01N decreció con la germinación mientras que la fracción extraída con KCl al 5o/o mostró un incremento. La solubilidad de la proteína en alcohol etílico al 70o/o y en agua permaneció prácticamente constante.

Los datos también indican que la extracción de proteína fue más alta con la solución de NaOH 0.01 N seguida por la solución de KCl al 5o/o agua y etanol al 70o/o. En el cuadro 12 se muestran los análisis estadísticos llevados a cabo con respecto al fraccionamiento de la proteína del frijol durante las diferentes fases de germinación, indicando una significancia al 1o/o para las fracciones solubles en NaOH 0.01N y KCl al 5o/o, no habiendo significancia para el caso del agua y el alcohol etílico al 70o/o.

CUADRO 10

LISINA, AMINOACIDOS AZUFRADOS TOTALES, METIONINA, CISTINA Y AMINOACIDOS LIBRES TOTALES CONTENIDOS EN MUESTRAS DE FRIJOL NEGRO (*Phaseolus vulgaris*, L.) DURANTE LAS DIFERENTES FASES FISIOLÓGICAS DE GERMINACION. I.

MUESTRAS CRUDAS

Días de germinación	Lisina	Aminoácidos azufrados totales	metionina	cistina	aminoácidos libres totales
0	6.12	1.44	0.842	0.598	25
3	5.77	1.25	0.796	0.456	154
6	5.72	1.21	0.804	0.403	262
9	4.87	1.15	0.837	0.314	279

- Estos datos representan el promedio de tres réplicas. La baja en los aminoácidos azufrados totales fue debida principalmente a la disminución en el contenido de cistina.

Medida por α amino Nitrógeno, todos los datos están expresados en g/16gN.

CUADRO 12

COMPONENTES DE VARIANZA

MUESTRAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*, L.)
 AMINOACIDOS ESENCIALES Y AMINOACIDOS LIBRES —
 FRIJOL CRUDO

Fuente	G.L.	Metionina	Cistina	Epsilon Amino Lisina	Aminoácidos Libres
Total	11	0.009	0.017	0.323	12546
Repeticiones	2	0.012	0.020*	0.088	573.8
Tratamientos	3	0.002	0.042**	0.906**	41232**
Error	6	0.001	0.034	0.110	2195

* significativo, $p \leq 0.05$

** significativo, $p \leq 0.01$

CUADRO 12

COMPONENTES DE VARIANZA
MUESTRAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*, L.)

FRACCIONAMIENTO DE PROTEINA – FRIJOL CRUDO

Fuente	G.L.	NaOH0.01N	H ₂ O	Kcl al 5o/o	Etanol
Total	11	97.52	1.30	6.62	0.04
Repeticiones	2	4.35	0.37	3.37	0.005
Tratamientos	3	331.78**	1.25	19.39**	0.089
Error	6	11.44	1.64	1.35	0.029

* significativo, $p \leq 0.05$

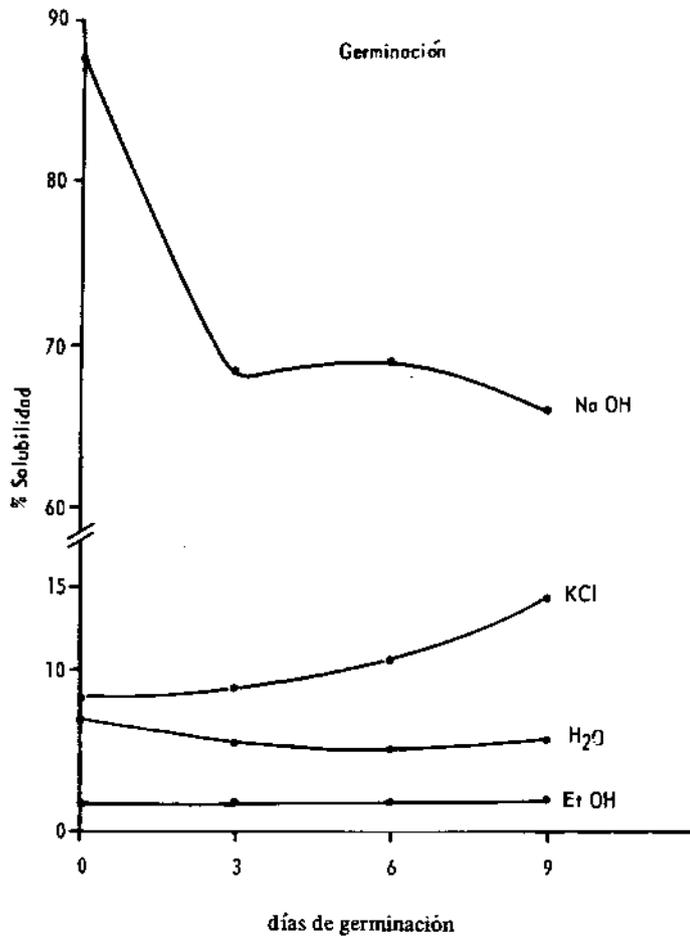
** significativo, $p \leq 0.01$

El efecto de los inhibidores de crecimiento sobre el tiempo de sobrevivencia de ratas alimentadas con muestras crudas se ilustra en la figura No. 2. Como se menciona anteriormente, el porcentaje de tiempo de sobrevivencia se incrementó durante la germinación desde 30o/o hasta cerca del 60o/o, indicando ello un bajo contenido de factores tóxicos conforme progresa la germinación. Es de interés también indicar que el peso de los páncreas de los animales bajo estudio mostró una tendencia a disminuir a medida que progresaba la germinación.

Como dato de comparación se presenta también en la figura No. 2 los valores para el peso del páncreas de las ratas alimentadas con frijol cocido. Los análisis estadísticos llevados a cabo sobre el tiempo de sobrevivencia de las ratas muestran diferencia significativa al nivel del 1o/o entre tratamientos, no así entre réplicas y duplicados.

FIGURA No. 1

SOLUBILIDAD DE PROTEINA DE FRIJOL COMUN
(Phaseolus vulgaris, L.) EN DIFERENTES
SOLVENTES DURANTE LAS DIFERENTES FASES
FISIOLÓGICAS DE GERMINACION.



El cuadro 13 muestra los cambios en el valor nutritivo del frijol común durante la germinación, indicando una disminución muy significativa en la calidad de la proteína. Se encontró una diferencia significativa ($P \leq 0.01$) para la ganancia en peso, y al nivel del 50/o para el índice de eficiencia protéica. En el caso de la digestibilidad, a pesar de que se encontró significancia al nivel del 50/o, es de interés indicar que también hubo significancia entre réplicas y entre duplicados. (Cuadro 14).

CUADRO 13

**CAMBIOS EN EL VALOR NUTRITIVO DEL FRIJOL
NEGRO (*Phaseolus vulgaris*, L.) DURANTE LAS
DIFERENTES FASES FISIOLÓGICAS DE GERMINACION.**

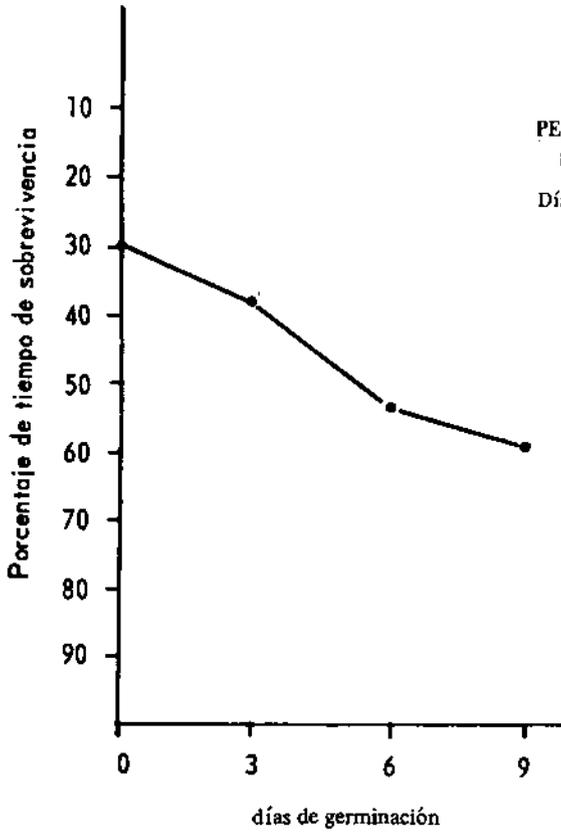
FRIJOL COCIDO

Días de germinación	Proteína en dieta o/o	Peso promedio de ratas inicial grs.	ganado en 4 semanas grs.	IEP *	Digestibilidad aparente o/o
0	10.4	53	28	0.99	67
3	9.9	53	24	0.86	64
6	10.3	53	15	0.59	67
9	10.2	53	4	0.26	60

* IEP — Índice de eficiencia protéica. Representa el valor de seis ratas por grupo todos los datos representan el promedio de tres repeticiones.

FIGURA No. 2

RELACION ENTRE INHIBIDORES DE CRECIMIENTO
SOBREVIVENCIA DE RATAS ALIMENTADAS CON
FRIJOL CRUDO (*Phaseolus vulgaris*, L.) Y LAS
DIFERENTES FASES FISIOLÓGICAS DE GERMINACION



PESO DE PANCREAS PROMEDIO DE 6 RATAS
grs/100grs de peso

Días de germinación	Frijol crudo	frijol cocido
0	0.0403	0.0070
3	0.0323	0.0065
6	0.0320	0.0125
9	0.0303	0.0162

CUADRO 14

COMPONENTES DE VARIANZA

MUESTRAS DE FRIJOL COMUN (*Phaseolus vulgaris*, L.)

ANALISIS BIOLOGICOS – MUESTRAS COCIDAS

Fuente	G.L.	Ganancia en Peso	Indice de eficiencia protéica	Digestibilidad	Fuente	G.L.	Sobrevivencia
Total	23	132.23	0.143*	23.97	Total	11	20.81
Repeticiones	2	44.27	0.124*	81.02*	Repeticiones	2	7.52
Tratamientos	3	731.4**	0.515*	56.72*	Tratamientos	3	66.97**
	6	16.40	1.40	33.26	Error	6	2.16
Inte duplicados	12	55.00	0.12*	1.64*			

significativo, p < 0.05

significativo, p < 0.01

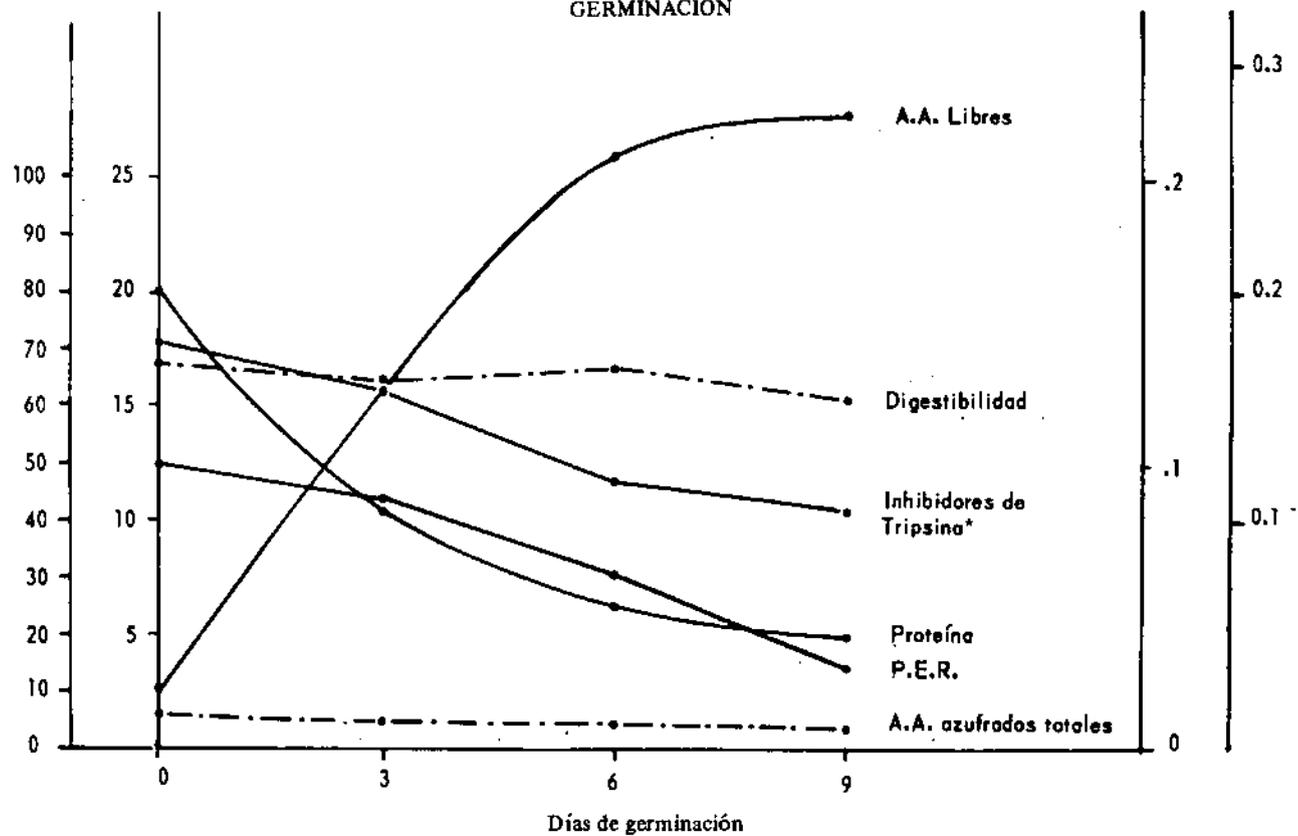
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES
 UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
 HELBIO OTTE

La figura 3 resume los cambios bioquímicos y nutricionales observados durante la germinación. Puede observarse que hay un incremento en los aminoácidos libres totales, mientras que el contenido de proteína total decreció progresivamente. La actividad de los inhibidores de crecimiento, también disminuyó progresivamente siendo más marcada entre el 3ro. y 6o. día. Los bajos valores nutritivos están correlacionados con una disminución en el contenido de aminoácidos azufrados totales, mientras que la digestibilidad de la proteína permanece constante.

Los análisis estadísticos demostraron una alta correlación positiva ($R=0.91$) entre el Índice de eficiencia protéica y el contenido de aminoácidos azufrados totales, asimismo ($R=0.95$) entre el Índice de eficiencia protéica y la cistina. Por otro lado no se encontró ninguna correlación entre el índice de eficiencia protéica y la lisina y entre el Índice de eficiencia protéica y la metionina individualmente, indicando que la alta correlación encontrada con los aminoácidos azufrados totales se debe a una disminución en el contenido de cistina durante la germinación del frijol.

FIGURA No. 3

GERMINACION



Aminoácidos libres totales 25-279 grs/100; Digestibilidad 67-60 (o/o); Proteína 20-4.8 grs.o/o (IEP 99) IEP .99-26; Aminoácidos azufrados totales grs/16gN.

5. DISCUSION:

Los resultados obtenidos sobre la composición química del frijol calculada en base fresca, durante las diferentes etapas de germinación reflejan las actividades metabólicas en cuanto a proveer los nutrientes necesarios para la formación de las diferentes partes vegetativas de la nueva planta. En general estos resultados están de acuerdo con los estudios de Pusztai (28); este investigador indica que los primeros 4 días se caracterizan por una fase de degradación marcada de proteína, seguida por una pronunciada etapa de síntesis de nueva proteína, alcanzando el máximo cerca del 80. día después del inicio de la germinación.

Por otro lado, al comenzar la formación de la nueva semilla, estos nutrientes tienen que ser movilizados de la planta a la semilla.

De interés son los resultados obtenidos en relación a la presencia de inhibidores de crecimiento y el valor nutritivo. En cuanto a las etapas de germinación se refiere, los datos obtenidos sobre la actividad de inhibidores de crecimiento aparentemente confirman los hallazgos de otros investigadores. Ambe y Sohnie (1) informaron la presencia de inhibidores de tripsina en todas las partes de la semilla germinada, así como en todas las etapas de crecimiento. Ellos también encontraron una disminución en los cotiledones y un incremento en los brotes con el progreso de la germinación.

Más recientemente, Palmer et al (26) encontraron que los inhibidores de tripsina y el valor nutritivo se incrementan durante la germinación.

Esta aparente discrepancia con los resultados aquí presentados puede ser debido a la diferente metodología empleada. Nuestros resultados indican una disminución en la actividad de los inhibidores de crecimiento conforme progresa la germinación, medida por el tiempo de sobrevivencia de las ratas,

lo cual pudo haberse debido a otros factores tóxicos diferentes a los inhibidores de tripsina. Estos resultados están de acuerdo con los hallazgos de Palmer et al (20).

Es posible que en este estado fisiológico, las semillas posean un poderoso sistema enzimático que puede degradar los inhibidores de crecimiento; esto es sugerido por el incremento en los aminoácidos libres y la disminución en los aminoácidos azufrados totales cuyo contenido se ha informado, es alto en algunos constituyentes tóxicos del frijol (19). Futuros estudios sobre el sistema enzimático pueden tener alguna importancia práctica.

Los resultados sobre el fraccionamiento de proteína pueden ofrecer una explicación de la disminución en el contenido de lisina durante la germinación, puesto que la solubilidad de la proteína en NaOH 0.01 N decreció y esta fracción se sabe que es una fuente rica de estos aminoácidos. Los estudios sobre el fraccionamiento de varias proteínas de leguminosas en diferentes estados fisiológicos pueden ser útiles para explicar la baja digestibilidad de este grupo de alimentos. El valor nutritivo fue determinado en el material cocido, de este modo se eliminó la presencia de la mayor parte de los factores termolábiles presentes en el frijol. Es posible que los resultados obtenidos por Palmer et al (26) estuvieran influenciados por el tipo de material empleado en vista que ellos usaron la semilla cruda germinada y caseína como fuente de proteína en las dietas. La disminución en el valor nutritivo durante la germinación puede explicarse por una disminución en el contenido de aminoácidos azufrados totales, principalmente la cistina, en vista de que ellos son los aminoácidos más limitantes en la proteína del frijol (5, 11, 6). Éstos resultados parecen indicar que la baja digestibilidad del frijol, cocido no está solamente asociada con los factores termolábiles tóxicos, en vista de que ésta permanece relativamente constante durante la germinación. Es también digno de notar que aunque la digestibilidad no fue afectada, el valor nutritivo disminuyó significativamente; resultados previos informados por Bressani et al (5) indican que el valor nutritivo

del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*, L.) mejora por suplementación por metionina, mientras que la digestibilidad permanece inalterable.

Finalmente, los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación indican la necesidad de estudios nutricionales más detallados durante las diferentes etapas germinativas del frijol, con el propósito de conocer las causas de su baja digestibilidad, y su posible relación con la presencia de los inhibidores de crecimiento.

El conocimiento de este mecanismo permitiría recomendar a los fitomejoradores la selección de materiales genéticos apropiados, con el propósito de mejorar la digestibilidad de las semillas de leguminosas que constituyen una fuente importante de proteína para nuestras poblaciones.

Es también de interés indicar la necesidad de llevar a cabo más investigaciones relacionadas con el estado fisiológico de la planta y su valor nutritivo, con el propósito de utilizar más eficientemente este importante recurso proteínico de nuestros pueblos.

6. RESUMEN

Se estudió el efecto de la germinación sobre el valor nutritivo del frijol negro (*Phaseolus vulgaris*, L.) Para las etapas de germinación se tomaron muestras de 0, 3, 6 y 9 días. Se observó un aumento en el contenido de agua y una disminución en el contenido de proteína, grasa, fibra cruda y cenizas expresado en base fresca. La disminución en el contenido de proteína está correlacionado con un aumento en el contenido de lisina, aminoácidos azufrados totales y en la actividad biológica de los inhibidores de crecimiento. Se observó una disminución en la solubilidad de las proteínas en NaOH 0.01N mientras que la fracción soluble en KCl al 5o/o aumentó. Las fracciones solubles en agua etanol al 70o/o permanecieron constantes. Se observó una disminución en el valor nutritivo durante la germinación y la digestibilidad de la proteína no fue afectada significativamente.

Los resultados sugieren que durante la germinación, la disminución en el valor nutritivo se debe al menor contenido de aminoácidos azufrados totales. Es de interés señalar que los resultados indicaron que de los aminoácidos azufrados analizados, la metionina permaneció constante mientras que la cistina disminuyó significativamente.

Se encontró una correlación positiva ($R=0.91$) entre el Índice de eficiencia protéica y los aminoácidos azufrados totales y ($R=0.95$) entre el índice de eficiencia protéica y cistina.

Se concluyó además que en esta etapa fisiológica la semilla posee un sistema enzimático capaz de hidrolizar algunos de los inhibidores de crecimiento. Finalmente los resultados demostraron la importancia de llevar a cabo estudios bioquímicos y fisiológicos con el propósito de evaluar la importancia de los factores tóxicos, las diferentes fracciones proteínicas y su composición de aminoácidos sobre la digestibilidad y el valor nutritivo de semillas de leguminosas que constituyen un importante recurso proteínico para los países de América Latina.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Ambe, K.S. and Sohonié. Cited by Pusztai, A. Nutrition Abst. & Reviews. 37: 1-9, 1967.
2. Association of Official Agricultural Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 9th. ed. Washington, D.C., 1960.
3. Banerjee, S., K. Rothatgi, M. Banerjee, D. Chattopadhyay and H. Chattopadhyay. "Pyridoxine, inositol and vitamin K contents of germinated pulses" Food res. 13: 397, 1948.
4. Bressani, R. and L. G. Elías. Legume foods. IN: New Protein Foods. Vol. I (Altschul, A.M. ed.) Academic Press. TO be published.
5. ———, and A.T. Valiente. Effect of cooking and amino acid supplementation on the nutritional value of black beans (*Phaseolus vulgaris*). British J. Nut. 17:69-78, 1963.
6. ———, and D. Navarrete. Nutritive value of Central American beans. IV. The essential amino acid content of sample of black beans, red beans, rice beans, and cowpeas of Guatemala. J. Food Sci. 26:525-528, 1961.
7. Conkerton, E.J., and V.L. Frampton. Reaction of gosypol with free E-amino groups of lysine in proteins. Arch. Biochem. Biophys. 81: 130-134, 1959.
8. Chattopadhyay, H., S. Banerjee. Effect of germination on the biological value of proteins and the trypsin inhibitor activity of some common Indian pulses. Indian J. Med. Res. 41: 185-189, 1953.

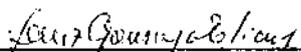
9. Desikachar, H.S.R., S.S. De. Role of inhibitors in soybean. *Science, N.Y.* 106: 421-422, 1947.
10. Elías, L.G. and Bressani. Uso de leguminosas de grano en alimentación humana. Trabajo presentado en la XIX Reunión del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de los Cultivos Alimenticios (PCCMCA) llevado a cabo en San José, Costa Rica del 5-8 de Marzo de 1973.
11. Elías, L.G., R. Colindres and R. Bressani. The nutritive value of eight varieties of cowpea (*Vigna sinensis*) J. *Food Science* 29: 118-122, 1964.
12. Everson, G.J., A. Steenbock, D.C. Cederquist, H.T. Parsons. The effect of germination, the stage of maturity and the variety upon the nutritive value of soybean protein. *J. Nutrition.* 27: 225-229, 1944.
13. Fisher, L.J. Silvia L. Bunting and L.E. Rosenberg. A modified ninhydrin colorimetric method for the determination of plasma alpha-amino nitrogen. *Clinical chem.* 9: 573-581, 1963.
14. Fiske, CH. and Y. Subarrow. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. chem.* 66: 375-400, 1925.
15. Flores, Marina y Emma Reh. "Estudios de Hábitos dietéticos de poblaciones de Guatemala. I. Magdalena Milpas Altas" Suplemento No. 2 del boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, Publicaciones científicas del INCAP. 90-128, 1955.
16. Hasbun, Lily D. Estudios Químicos sobre las proteínas y contenido de nitrógeno, metionina, cistina y lisina de variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris*, L.) de Centroamérica. Trabajo de Tesis presentado a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la

Universidad de El Salvador, Mayo, 1970, previo a optar al título de Química Farmacéutica.

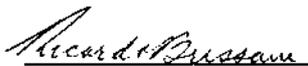
17. Hegsted, D.M., R.C. Mills, C.A. Elvehjem and E.B. Hart. Choline in the nutrition on chicks. *J. Biol. chem.* 138: 459-466, 1941.
18. Jackson, S.H. Determination of iron in biological material. *Industrial and Engineering chemistry Analytical Edition* 10: 302-304, 1938.
19. Jaffé, W.G. Factores tóxicos en leguminosas. *Arch. Latinoamericanos de Nut.* 18: 203, 1968.
20. ———, and K. Hanning. Fractionation of proteins from kidney beans (*Phaseolus vulgaris*, L.) *Arch. Biochem. Biophys.* 109: 80-91, 1965.
21. Kakade, M.L., R.J. Evans. Effect of Soaking and germination on the nutritive value of navy beans. *J. Food Science.* 31: 781-783, 1966.
22. Liener, I.E., M.L. Kakade. In: *Toxic constituents of Plant Foodstuffs* (Liener, I.E., edl). New York, 1969. Academic Press, Page. 8.
23. Lowry, O.H. and J.A. López. The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters. *J. Biol. Chem.* 162: 421-428, 1946.
24. Manna. L. and S.M. Hauge. A posible relationship of vitamin B₁₃ to orotic acid. *J. Biol. Chem.* 202: 91-95, 1953.
25. Moss, M.L. and M.G. Mellon. Colorimetric determination of iron with 2,2' - bipyridyl and with 2,2', 2'' terpyridyl. *Industrial Eng. Chem. Anal. Ed.* 14: 862-865, 1942

26. Palmer, R., A. McIntosh and A. Pusztai. The nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). The effect of nutritional value of seed germination and changes in trypsin inhibitors content. *J. Sci. and Food Agric.* 24: 937-944, 1973.
27. Pusztai, A. Trypsin inhibitory of plant origin, their chemistry and potential role in animal Nutrition. *Nut. Abst. and Reviews* 37: 1-9, 1967.
28. ———, cited by Palmer, R. et al. *J. Food Sci.* 24: 937 - 944, 1973
29. Seidl, D., M. Jaffé and W. G. Jaffé Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. *J. agric. Food chem.* 17: 1318-1321, 1969.
30. Simons, C.S., Tárano R. J.M. y Pinto S., J.N. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la República de Guatemala. Edición en Español por Pedro Tirado Sulsona. Guatemala. Instituto Agropecuario Nacional y Editorial del Ministerio de Educación Pública "José de Pinceda Ibarra. 1959. pp.24-28.
31. Wilson, C.L. y Loomis, W.E. Botánica. 4a. ed. Trad. por: Irina L. de Coll. México, D.F., UTHEA, 1968. 329-331.

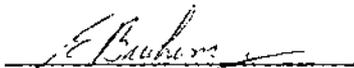
TESIS REVISADA POR:



Dr. Luis Gonzaga Elías
Asesor de Tesis por INCAP
Jefe de la Sección de Ciencias
de Alimentos.



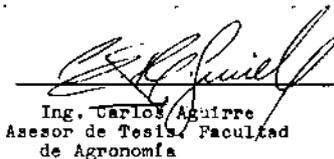
Dr. Ricardo Bressani
Jefe División Química Agrícola



Dr. Edgar Braham
Sub-Jefe División Química Agrícola



Ing. Agr. Carlos Estrada C.
Asesor de Tesis. Facultad
de Agronomía

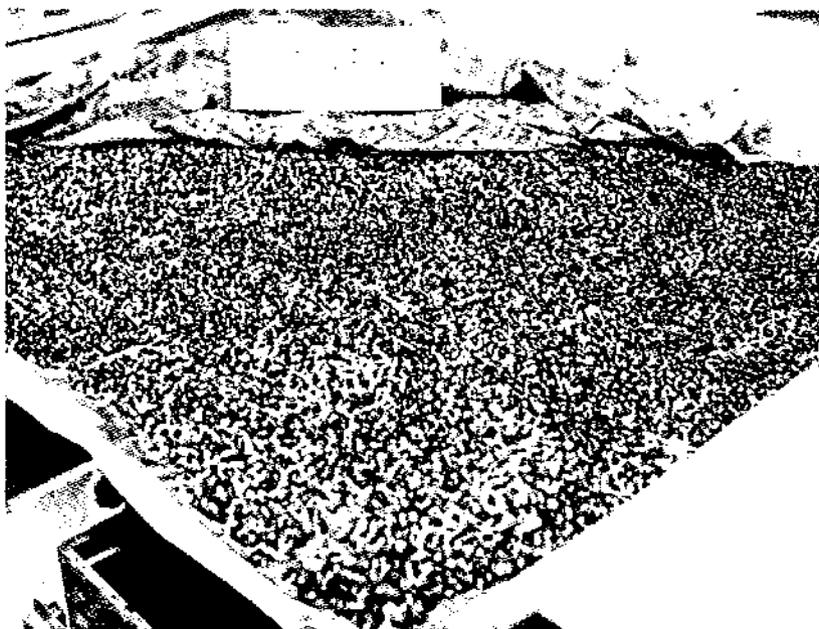


Ing. Carlos Aguirre
Asesor de Tesis, Facultad
de Agronomía

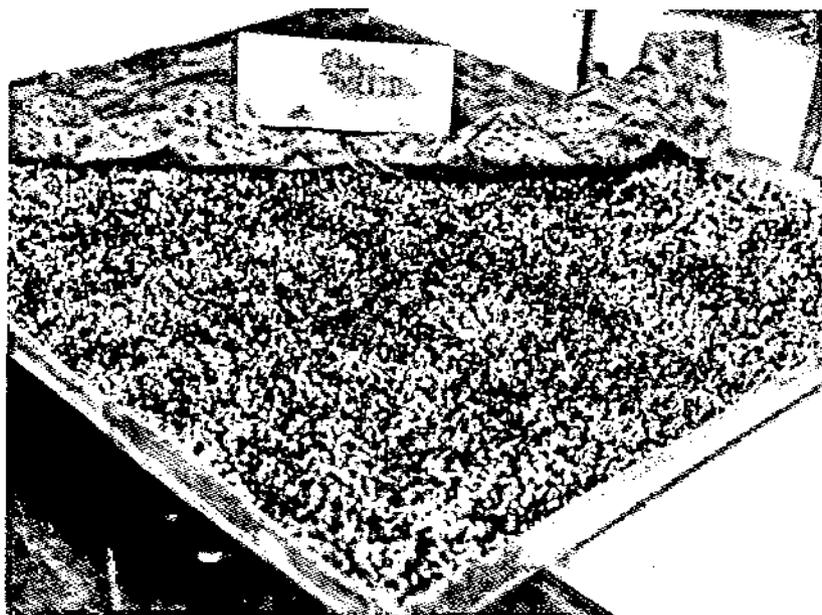

ING. AGR. EDGAR IBARRA

7. APENDICE

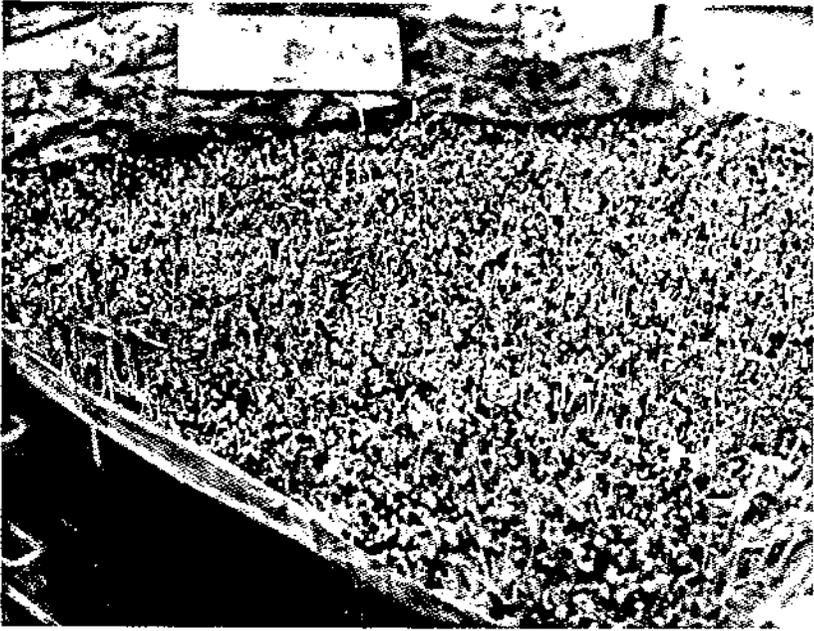
**TRES DIFERENTES TRATAMIENTOS EN SUS
RESPECTIVAS BANDEJAS DE GERMINACION**



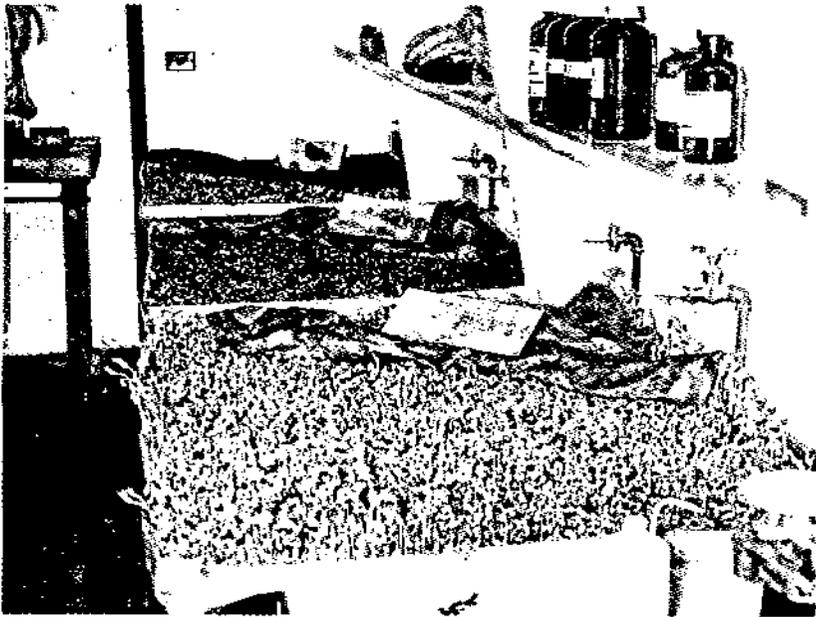
Tratamiento de tres días



Tratamiento de seis días



Tratamiento de nueve días



**Vista parcial de los tres tratamientos
tres, seis y nueve días en cuarto oscuro.**