

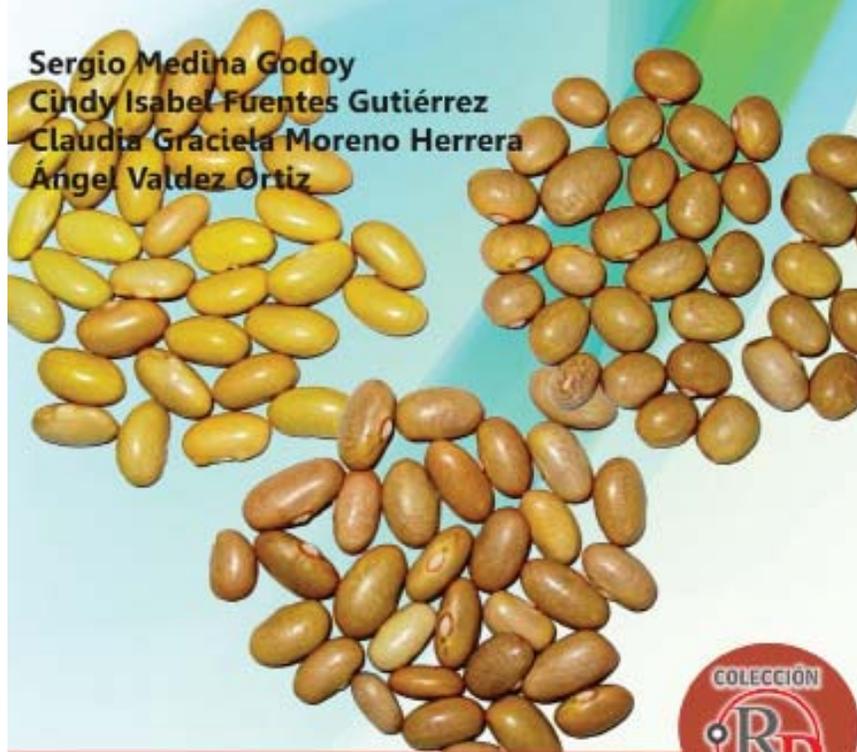
**FUNDACIÓN  
PRODUCE**  
*Sinaloa A.C.*  
ENLACE, INNOVACIÓN Y PROGRESO



**GOBIERNO  
DEL ESTADO  
DE SINALOA**

# Identificación de variedades de frijol azufrado con propiedades medicinales

Sergio Medina Godoy  
Cindy Isabel Fuentes Gutiérrez  
Claudia Graciela Moreno Herrera  
Ángel Valdez Ortiz



**RESULTADOS DE PROYECTOS**



# **Identificación de variedades de frijol Azufrado con propiedades medicinales**

**Sergio Medina Godoy<sup>1</sup>**  
**Cindy Isabel Fuentes Gutiérrez<sup>1 y 2</sup>**  
**Claudia Graciela Moreno Herrera<sup>1</sup>**  
**Ángel Valdez Ortiz<sup>2</sup>**

---

<sup>1</sup> Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR), unidad Sinaloa, del Instituto Politécnico Nacional.  
<sup>2</sup> Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

## Índice

<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>Hipertensión arterial.....</b>	<b>7</b>
<b>Estadísticas de la enfermedad.....</b>	<b>8</b>
<b>Importancia de controlar la Enzima Convertidora de Angiotensina.....</b>	<b>8</b>
<b>Alimentos funcionales.....</b>	<b>9</b>
<b>Leche materna, el mejor alimento funcional.....</b>	<b>10</b>
<b>Compuestos nutracéuticos.....</b>	<b>10</b>
<b>Péptidos bioactivos.....</b>	<b>11</b>
<b>Péptidos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina.....</b>	<b>11</b>
<b>Frijol, la leguminosa más consumida en el mundo..</b>	<b>12</b>
<b>Cifras de producción.....</b>	<b>13</b>
<b>Composición química.....</b>	<b>13</b>
<b>Justificación del proyecto.....</b>	<b>14</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>14</b>
<b>Objetivos del proyecto.....</b>	<b>14</b>
<b>METODOLOGÍA APLICADA.....</b>	<b>14</b>
<b>Materiales evaluados.....</b>	<b>14</b>
<b>Obtención de harinas.....</b>	<b>15</b>
<b>Obtención de aislados de proteína.....</b>	<b>15</b>
<b>Hidrólisis bajo condiciones controladas, empleando en experimentos independientes tres enzimas: alcalasa, termolisina y pancreatina.....</b>	<b>16</b>
<b>Caracterización antihipertensiva de los distintos hidrolizados.....</b>	<b>16</b>
<b>Caracterización antioxidante de los distintos hidrolizados.....</b>	<b>18</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>1. Obtención de aislados de proteína.....</b>	<b>19</b>
<b>2. Hidrólisis bajo condiciones controladas.....</b>	<b>19</b>

<b>3. Caracterización antihipertensiva de los hidrolizados de frijol.....</b>	<b>20</b>
<b>4. Caracterización antioxidante de los hidrolizados de frijol.....</b>	<b>21</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>21</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>23</b>

---

## **INTRODUCCIÓN**

En este folleto encontrará un estudio sobre el potencial medicinal de tres variedades de frijol sinaloense (Azufrado Higuera, Azufrado Regional 87 y Azufrado Noroeste) para combatir la tensión excesivamente alta de la sangre y el envejecimiento de la piel.

La información que presenta este documento son los resultados del proyecto Identificación y caracterización de péptidos con propiedades antioxidante y antihipertensiva en frijol cultivado en el estado de Sinaloa, apoyado por Fundación Produce Sinaloa, A. C., durante 2008-2009 a través de su Consejo Consultivo zona norte, así como por el Fondo Mixto del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt)-Sinaloa (clave de proyecto: Sin-2007-c01-70023).

### **Hipertensión arterial<sup>3</sup>**

Una de las actividades a las que más recursos destinan los organismos de salud por su alta prevalencia y su importancia como factor desencadenante de enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares (tanto aterotrombóticas<sup>4</sup> como hemorrágicas) y renales es la detección, tratamiento y control de la hipertensión arterial.

La hipertensión arterial se presenta cuando los valores de la presión arterial sistólica<sup>5</sup> son mayores o iguales a 140 milímetros de mercurio, y/o los valores de la presión arterial diastólica<sup>6</sup> son mayores o iguales a 90 milímetros de mercurio en personas no tratadas con fármacos

<sup>3</sup> Tensión excesivamente alta de la sangre.

<sup>4</sup> De aterotrombosis: enfermedad que se manifiesta por la formación de coágulos sobre una lesión en las arterias.

<sup>5</sup> Efecto de presión que ejerce la sangre expulsada del corazón sobre la pared de los vasos.

<sup>6</sup> Efecto de presión que ejerce la sangre sobre la pared del vaso.

---

antihipertensivos. Este padecimiento corresponde a una manifestación que implica diversos factores causales, tanto genéticos como ambientales; aún no está clara la forma en que éstos interactúan para que se desencadene la hipertensión arterial.

### Estadísticas de la enfermedad

Según la Organización Mundial de la Salud, el 62% de la población que padece enfermedades vasculares en el mundo, así como el 49% que sufre enfermedad coronaria isquémica<sup>7</sup> deben su padecimiento a una presión arterial mayor de 115 milímetros de mercurio.

En lo que se refiere a México, el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) asegura que hasta 2007 se registraron aproximadamente 15 millones de personas hipertensas, de las que sólo el 19.2% se encuentra bajo control médico, mientras que el 61% no sabe que la padece.

El IMSS afirma que para el tratamiento de pacientes hipertensos, en 2007 se destinó el 19% del presupuesto total asignado al sector salud, con lo que la enfermedad se posicionó en segundo lugar en atención, sólo detrás de la diabetes (que para su tratamiento absorbió el 23% del recurso total).

Para el caso de Sinaloa, en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2006 se indicó que la hipertensión arterial aumentó en proporción en los últimos 15 años, pues mientras en 1993 se contaba con 10.1% de sinaloenses hipertensos, para el año 2000 la cifra había aumentado a 12.5%, y para 2006 el valor fue de 15.4%.

### Importancia de controlar la Enzima<sup>8</sup> Convertidora de Angiotensina

Muchos de los fármacos empleados en el control de la hipertensión se basan en el sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona: la renina (proteína), que es secretada por algunas células del riñón cuando hay descenso de sales (como calcio), actúa sobre un mensajero llamado angiotensinógeno y lo transforma en angiotensina I, quien a su vez (en presencia de la Enzima Convertidora de Angiotensina [ECA]) se transforma en angiotensina II.

La angiotensina II (molécula mensajera), junto con el potasio proveniente de la dieta y otras moléculas, desencadena una serie de señales que lleva como resultado final el incremento de la presión arterial sanguínea. Ver Figura 1.

De lo anterior se observa la relevancia de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA), y el porqué muchos fármacos están dirigidos a su control.

De manera natural se han encontrado fragmentos de proteínas denominados péptidos, que tienen la capacidad de impedir la acción de

<sup>7</sup> Enfermedad que se manifiesta cuando el oxígeno que llega al corazón es insuficiente.

<sup>8</sup> Proteína que acelera los procesos químicos en el organismo.

la ECA; los primeros se identificaron en el veneno de serpientes, posteriormente en productos lácteos fermentados.

### Alimentos funcionales

El término alimento funcional hace alusión a cualquier alimento o ingrediente de alimento potencialmente saludable que puede proporcionar efectos benéficos a la salud, que van más allá de los nutrientes tradicionales que poseen.

Esta función de los alimentos está relacionada con la modulación de los sistemas de los organismos vivos, como el sistema inmune, circulatorio, digestivo y nervioso; lo que se traduce en reducción de la presión sanguínea, y de los niveles de colesterol en la sangre, así como en una mejoría de la flora bacteriana y del funcionamiento intestinal.

La existencia de alimentos funcionales está documentada desde el año 1000 antes de Cristo, en China, país que se caracteriza por el elevado empleo de alimentos y productos vegetales para la prevención y tratamiento de enfermedades.

A pesar de lo anterior, no fue hasta hace poco menos de 30 años

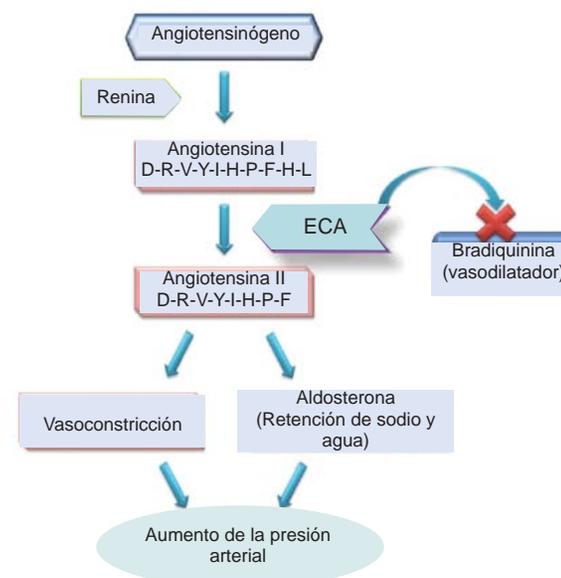


Figura 1. Actividad de la Enzima Convertidora de Angiotensina en el sistema Renina-Angiotensina.

que se desarrolló el concepto de alimentos para uso saludable específico (FOSHU, por sus siglas en inglés: Food for Specified Health Uses). A partir de entonces diversos países han adoptado el término de alimentos funcionales en la legislación y normas de los alimentos.

### Leche materna, el mejor alimento funcional

El mejor ejemplo de un alimento funcional es la leche humana, que contiene un gran número de elementos bioactivos de vital importancia en el desarrollo de los recién nacidos; sin embargo, existe una enorme cantidad de alimentos funcionales en los que se ha demostrado su efecto benéfico a la salud, así como otros más en los que no se ha certificado esta cualidad ante la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés: Food and Drug Administration), como el ajo, brócoli y el pescado, que contribuyen a disminuir el riesgo de contraer cáncer o la enfermedad cardíaca coronaria.

En el Cuadro 1 se muestran algunos ejemplos de alimentos funcionales cuyo efecto benéfico a la salud ya ha sido comprobado, por lo que se encuentran reconocidos por la FDA.

### Compuestos nutraceuticos

Se le conoce como compuesto nutraceutico a aquella sustancia química que ejerce un efecto benéfico para alguna función corporal del individuo, produciendo una mejora en su salud y bienestar o reduciendo el riesgo de padecer alguna enfermedad.

Dentro del grupo de compuestos nutraceuticos se pueden mencionar algunos presentes de manera natural en plantas, como polifenoles, fibra y carotenoides, los que además de ejercer una función específica relacionada con la defensa de la planta frente a agentes externos, poseen la capacidad de prevenir o servir como tratamiento para algunas enfermedades, como cáncer e hipertensión.

**Cuadro 1. Alimentos reconocidos como funcionales por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés).**

Alimento funcional	Beneficios potenciales
Lácteos	Disminuyen el riesgo de cáncer, de contraer la enfermedad cardíaca coronaria y reducen la probabilidad de osteoporosis.
Alimentos con azúcares alcohólicos en lugar de sacarosa (gomitas de mascar, caramelos, bebidas o aperitivos)	Reducen el riesgo de caries dental.
Productos de avena (salvado, harina o avena integral)	Disminuyen los niveles de colesterol en la sangre y mejoran la digestión.
Vegetales y frutas	Reducen el riesgo de cáncer y enfermedades cardíacas.
Cereales ricos en fibra y pan integral	Disminuyen el riesgo de cáncer de colon y reducen la probabilidad de contraer la enfermedad cardíaca coronaria.

Fuente: Thomson y col (1999).

A pesar de que existen diferentes tipos de compuestos bioactivos, para la presente investigación interesan aquellos provenientes de la "hidrólisis" ("fragmentación o degradación") de proteínas, los denominados péptidos bioactivos.

### Péptidos bioactivos

Se conoce como péptidos bioactivos a los fragmentos resultantes del tratamiento químico o bioquímico de proteínas intactas; estas sustancias son inactivas dentro de la proteína intacta pero pueden activarse al ser liberadas durante la digestión gastrointestinal del alimento que las contiene, o por su procesamiento; como por ejemplo las proteínas de la leche, que son "hidrolizadas" ("fragmentadas") durante la fabricación del queso, o mediante el uso de reactores de hidrólisis enzimática. Ver Figura 2.

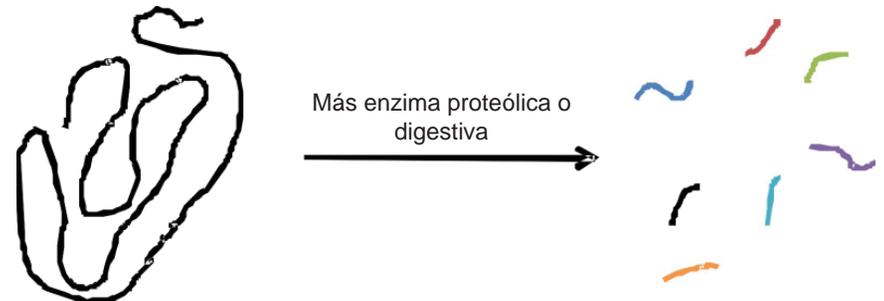
Los péptidos bioactivos pueden actuar en beneficio de la salud del organismo que los consume, es por ello que además de las características nutricionales de una proteína también deberá considerarse la presencia y actividad de péptidos bioactivos que podrían liberarse de su hidrólisis, ya sea a través de la digestión gastrointestinal o durante su procesamiento.

La ventaja que presentan los péptidos bioactivos radica en que en una proteína pueden existir distintos tipos de éstos con diferentes propiedades. Ver Cuadro 2.

### Péptidos inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina

Actualmente, la función más conocida de los péptidos que se han aislado es la de inhibir a la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA); esta enzima puede localizarse en diversas zonas del organismo, como pulmones, corazón, riñón, páncreas, arterias, músculos, cerebro, intestinos y útero.

Se han realizado evaluaciones en laboratorio y en organismos vivos sobre la inhibición de ECA. En estos estudios se observó una disminución en la presión arterial de ratas hipertensas después de la ingesta de péptidos inhibidores de ECA.



**Figura 2. Representación de la hidrólisis de una proteína.**

## Cuadro 2. Tipos de péptidos bioactivos y sus efectos benéficos en el organismo.

Péptidos	Efecto positivo a la salud
Inhibidores de ECA (antihipertensivos)	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.
Antioxidantes	Previenen enfermedades degenerativas y el envejecimiento.
Antimicrobianos	Reducen el riesgo de infecciones.
Inmunomoduladores	Estimulan la respuesta inmune.
Quelantes	Mejoran la absorción de minerales y metales.
Anticoagulantes	Reducen los riesgos de padecer coágulos de sangre en las venas.
Hipocolesterolémicos	Reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.
Opioides	Regulan el tránsito intestinal y mejoran la digestión y absorción de nutrientes.

Fuente: Vioque y col. (2006).

En los últimos años se han realizado múltiples investigaciones encaminadas a la identificación de péptidos en proteínas de distintas fuentes, de las que las de origen vegetal han tomado gran importancia, en primer lugar porque se pueden encontrar en grandes cantidades, y porque existen metodologías para su extracción en soya, canola y maíz que pueden ser aplicadas para la obtención de estas sustancias desde otras fuentes.

También influye el hecho de que las proteínas vegetales son más económicas que las de otras fuentes (como las de pescado o lácteas) y son fácilmente almacenables.

### Frijol, la leguminosa más consumida en el mundo

El frijol (*Phaseolus vulgaris*) es un miembro de la familia de las Leguminosae, tribu Phasolae, subfamilia Papilionoideae. Se considera como la leguminosa de grano que mayormente se consume en el mundo.

Físicamente, la semilla de frijol puede ser de apariencia redonda o elíptica.

Existen más de mil 300 especies de leguminosas, de las que sólo 20 son consumidas por humanos. En el valle de Tehuacán, Puebla, se han encontrado evidencias de que existe desde el año 4975 antes de Cristo.

**Origen.** Según evidencias arqueológicas, el frijol ha sido cultivado desde hace aproximadamente 8 mil años. La especie *Phaseolus vulgaris* o frijol común es originaria del área México-Guatemala.

La mayoría de las variedades que se cultivan en Europa, Estados Unidos y en México son especies y variedades del género *Phaseolus*; este género comprende un amplio número de especies, que incluyen hierbas anuales, perenes, erectas y volubles.

Existen 180 especies del género *Phaseolus*, de las que aproximadamente 126 provienen del continente Americano, 54 del sur de Asia y oriente de África, dos de Australia y una de Europa.

### Cifras de producción

Para el año 2006 se reportó una producción mundial de 19 millones 514 mil 224 toneladas de frijol; los principales países productores fueron Brasil (18%), India (16%), China (10%), Myanmar (9%), México (7%), Estados Unidos (5%) y Kenia (3%), cuyas producciones representaron 13 millones 280 mil 292 toneladas del total producido para ese año.

Para 2006 México registró una producción de un millón 385 mil 783.81 toneladas de frijol; los estados que más aportaron fueron Zacatecas, Durango y Sinaloa; este último con una producción de 180 mil 200.5 toneladas. Los municipios sinaloenses que destacaron por su producción fueron Guasave, Ahome y Angostura.

### Composición química

Las leguminosas (junto con los cereales) son una de las fuentes de energía y nutrimentos más importantes del mundo, en especial en aquellos países que están en vías de desarrollo.

Como toda leguminosa, el frijol es fuente de proteínas, carbohidratos complejos, vitaminas (como riboflavina<sup>9</sup>, niacina<sup>10</sup> y ácido fólico<sup>11</sup>) y de ciertos minerales (como cobre, hierro, fósforo, zinc, magnesio y calcio); además, es una fuente excelente de ácidos grasos poliinsaturados<sup>12</sup> (ácidos linoléico y linolénico).

El frijol también posee un contenido importante de fibra soluble, lo que lo hace efectivo en la disminución de colesterol en la sangre.

Aunado a esto, el frijol posee ciertas características que se consideran indeseables, como factores de flatulencia, fitatos<sup>13</sup>, inhibidores enzimáticos, lectinas<sup>14</sup> y su largo tiempo de cocción.

9 También conocida como vitamina B2; es importante para la producción de energía y el mantenimiento de la piel y del tejido de los ojos.

10 Llamada también vitamina B3 o PP; es esencial para la salud de la piel y el sistema nervioso.

11 También se le conoce con vitamina B9; participa en la síntesis de proteína, está ligado a reducir defectos de nacimiento, fortalece el sistema inmune en recién nacidos y favorece el buen funcionamiento del cerebro y sistema nervioso.

12 Ácidos grasos que tienen más de un lugar (poli) donde el hidrógeno puede ser añadido. Una dieta alta en grasa monoinsaturada y poliinsaturada es generalmente asociada con un riesgo reducido de enfermedades cardiovasculares.

13 Sustancias que se hallan en alimentos de origen vegetal. Pueden formar compuestos insolubles (no digeribles), por ejemplo con el calcio y magnesio.

14 Proteínas que se unen a azúcares y son capaces de producir aglutinación de éstos.

**Contenido de proteínas.** El contenido de proteína reportado para frijol oscila entre 16 y 33% del peso del grano en base seca.

En el frijol también se debe considerar la presencia y nivel de actividad de péptidos bioactivos, debido al gran aporte que éstos tienen en la salud del organismo que los consume, pero para el caso de esta leguminosa aún no se encuentran reportes sobre estos compuestos.

### Justificación del proyecto

El incremento en la demanda por alimentos que además de nutrir proporcionen un beneficio a la salud exhorta al desarrollo de métodos alternativos para el procesamiento de alimentos tradicionales, como el frijol, para generar productos con potencial empleo en el tratamiento de padecimientos crónicos, como la hipertensión arterial.

Lo anterior podría, en un futuro, coadyuvar a aliviar (en cierta medida) los problemas de falta de comercialización que se han presentado en años anteriores en el cultivo de frijol.

### Hipótesis

Los hidrolizados de proteínas de variedades de frijol Azufrado producidas en el estado de Sinaloa poseen péptidos bioactivos con potencial nutracéutico.

### Objetivos del proyecto

1. Elaborar aislados proteicos de distintos genotipos de frijol de Sinaloa.
2. Obtener hidrolizados bajo condiciones controladas.
3. Caracterizar genotipos de frijol cultivados en Sinaloa con actividad antihipertensiva.
4. Caracterizar genotipos (variedades) de frijol cultivados en Sinaloa con actividad antioxidante.

### METODOLOGÍA APLICADA

**Materiales evaluados.** Los materiales de frijol empleados en esta investigación fueron Azufrado Higuera, Azufrado Regional 87 y Azufrado Noroeste, proporcionados por el Instituto Nacional de Investigadores Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

La investigación se realizó bajo el siguiente esquema de trabajo:

1. Obtención de harina (quebrado de grano y pulverización).
2. Obtención de aislados de proteína.
3. Hidrólisis bajo condiciones controladas, empleando en experimentos independientes tres enzimas: alcalasa<sup>15</sup>, termolisina<sup>15</sup> y pancreatina<sup>16</sup>.

<sup>15</sup> Enzima que acelera la degradación de las proteínas.

<sup>16</sup> Proteína que acelera la digestión en el organismo.



Figura 3. Granos de frijol Azufrado empleados en la investigación.

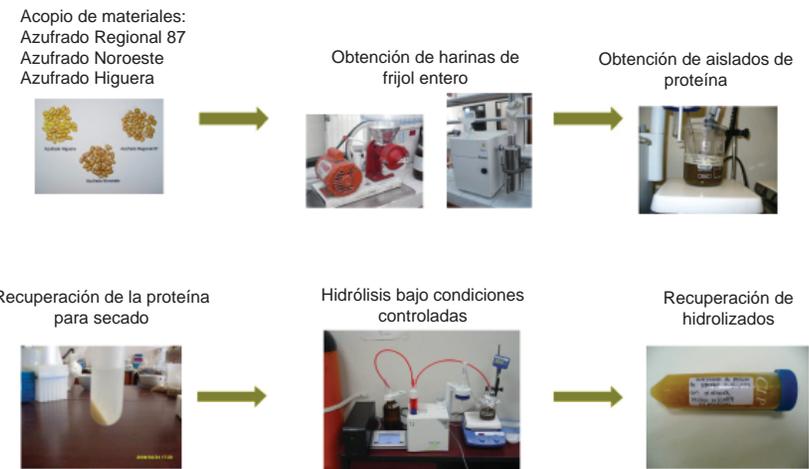


Figura 4. Esquema general de trabajo.

4. Caracterización antihipertensiva de los distintos hidrolizados.
5. Caracterización antioxidante de los distintos hidrolizados.

**Obtención de harinas.** Para la elaboración de las distintas harinas primero se quebró el grano en un molino, impulsado por un motor de medio caballo de fuerza; posteriormente el grano se pasó por un molino de martillos, marca Perten. Este proceso se realizó en la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán.

**Obtención de aislados de proteína.** En una primera etapa se extrajo la proteína bajo condiciones alcalinas. Las harinas se solubilizaron al 10% en agua (100 gramos de harina en un litro de agua) en condiciones alcalinas, y se mantuvieron en agitación.

Después de una hora se separó la proteína soluble mediante centrifugación<sup>17</sup> y se recuperó el líquido que contenía a las proteínas.

En una segunda etapa se recuperó la proteína bajo condiciones ácidas.

Las proteínas en forma insoluble se separaron por centrifugación. La proteína en forma de pastilla se recuperó en los tubos de centrifuga.

**Hidrólisis bajo condiciones controladas, empleando en experimentos independientes tres enzimas: alcalasa, termolisina y pancreatina.**

Una cantidad conocida de proteína se mezcló con una de las enzimas (alcalasa, termolisina o pancreatina); el pH de la solución se mantuvo constante, empleando un titulador automático por al menos dos horas, para permitir la acción de las enzimas y degradar la proteína de frijol.

Posterior a la etapa de hidrólisis, la proteína no digerida se separó mediante centrifugación, manteniéndose en solución sólo los productos de la hidrólisis (péptidos) a los que se les determinará la actividad nutracéutica.

**Caracterización antihipertensiva de los distintos hidrolizados.**

Cuando las enzimas están activas son capaces de transformar su sustrato específico en un producto; en el caso de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) el sustrato se denomina HHL, y el producto es HL, que tiene una absorbancia<sup>18</sup> específica. En presencia de un inhibidor, la cantidad del producto se verá disminuida o no habrá.

Para cada hidrolizado, el porcentaje de inhibición se determina a distintas concentraciones.

Al final, se obtiene una curva donde se determina la concentración



Figura 5. Molinos empleados para la obtención de harinas.

17 Método por el cual se pueden separar sólidos de líquidos de diferente densidad mediante una centrifugadora, la cual imprime a la mezcla un movimiento rotatorio.

18 Medida de la atenuación de una radiación al atravesar una sustancia.

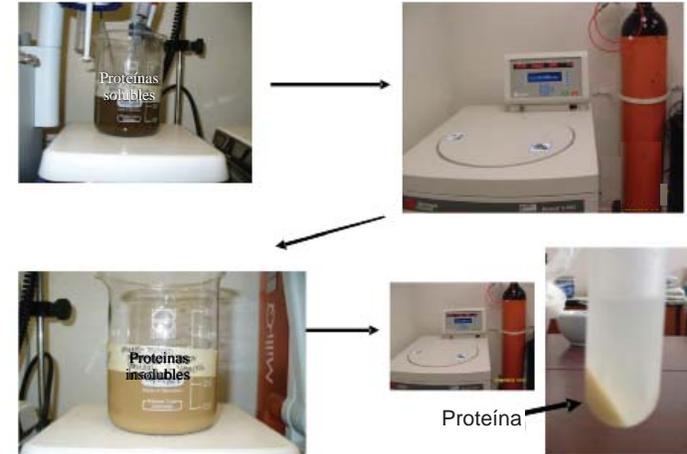


Figura 6. Etapas de obtención de aislados proteicos.

**Cuadro 3. Tratamientos para la obtención de hidrolizados.**

Variedad	Alcalasa	Termolisina	Pancreatina
Azufrado Higuera	✓	✓	✓
Azufrado Noroeste	✓	✓	✓
Azufrado Regional 87	✓	✓	✓

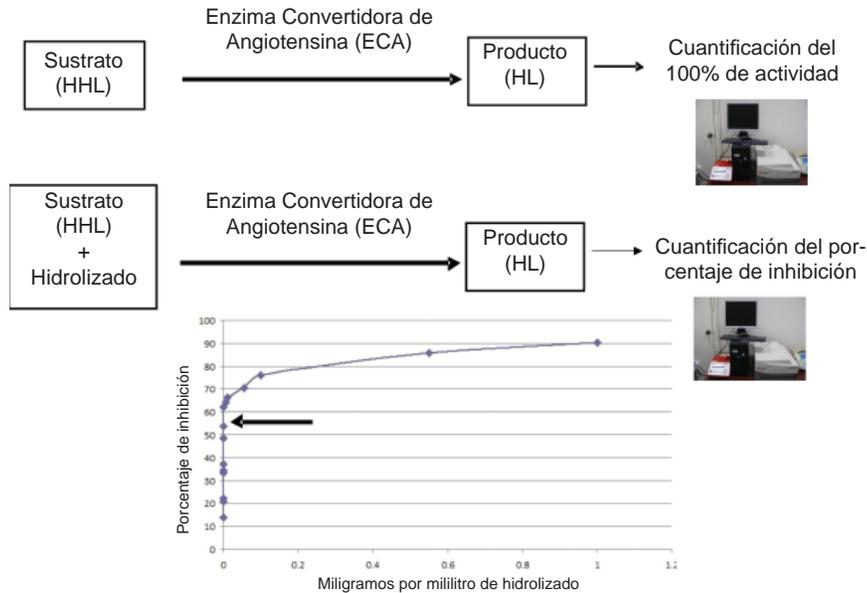


Figura 7. Sistema de hidrólisis, donde se observa el titulador automático que controla el pH de la solución y un sistema para el control de la temperatura.

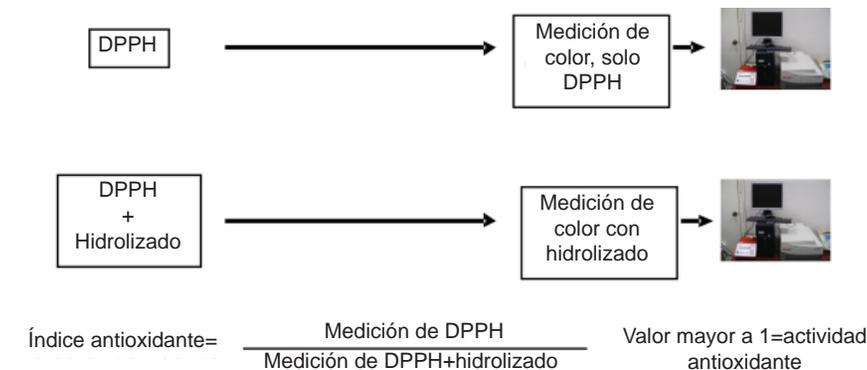
de hidrolizado necesaria para inhibir al 50% la enzima ECA.

**Caracterización antioxidante de los distintos hidrolizados.** Para esta labor se empleó el reactivo DPPH, que es un agente oxidante de color púrpura,

Al mezclar DPPH con un antioxidante, en este caso con hidrolizados, el agente oxidante se degrada o elimina, cambiando su color hacia amarillo; posteriormente se cuantifica cuánto DPPH está aún presente.



**Figura 8. Representación esquemática de la determinación de la actividad antihipertensiva.**



**Figura 9. Representación esquemática del ensayo de actividad antioxidante.**

## RESULTADOS

**1. Obtención de aislados de proteína.** Se obtuvieron tres aislados proteicos de los materiales Azufrado Higuera, Azufrado Noroeste y Azufrado Regional 87 (ver Cuadro 4).

**Cuadro 4. Rendimiento de aislado proteico y contenido de proteína de granos de frijol de materiales evaluados\*.**

Variedad	Porcentaje de rendimiento**	Porcentaje de proteína en aislado***
Azufrado Higuera	13	61.01
Azufrado Noroeste	12.50	58.39
Azufrado Regional 87	12.50	66.73

\* Valor promedio obtenido de tres extracciones.

\*\*Expresado como porcentaje de aislado obtenido de 100 gramos de harina.

\*\*\*Contenido de proteína presente en los aislados, determinado por el método de Lowry.

Los resultados de rendimiento, es decir cantidad de aislado por harina procesada, fue de mayor a menor en el siguiente orden: Azufrado Higuera (con 13%), Azufrado Noroeste (12.5%) y Azufrado Regional 87 (12.5%), este nivel se encuentra en el promedio de lo obtenido en otros granos, y bajo para lo reportado en otros estudios de frijol (de 15 a 20% de rendimiento); lo que indica que es posible optimizar la extracción en un futuro.

El contenido de proteína en los aislados fue de 66.73% para Azufrado Regional 87, 61.01% para Azufrado Higuera, y 58.39% para Azufrado Noroeste.

De lo anterior se deduce que la variedad que más proteína provee por harina procesada es Azufrado Regional 87, del que se podrían obtener 8.34 gramos de proteína por cada 100 gramos de harina procesada; le siguen Azufrado Higuera (7.93 gramos) y Azufrado Noroeste (7.30 gramos).

**2. Hidrólisis bajo condiciones controladas.** Se obtuvieron nueve hidrolizados proteicos, los cuales corresponden al tratamiento enzimático de los aislados proteicos de cada uno de las tres variedades de frijol (Azufrado Higuera, Azufrado Noroeste y Azufrado Regional 87) con las tres enzimas (alcalasa, termolisina y pancreatina). Ver Cuadro 5.

A cada uno de los hidrolizados se les determinó el porcentaje de recuperación, es decir la cantidad de proteína recuperada en función de la proteína al inicio de la hidrólisis. De éstos, el valor promedio más alto fue presentado por la enzima termolisina (25.91%), seguida de pancreatina (22.55%) y alcalasa (21.29%).

Azufrado Noroeste con la enzima pancreatina fue el que presentó

**Cuadro 5. Porcentaje de recuperación de los distintos hidrolizados de proteína de frijol\*.**

Variedad	Alcalasa	Termolisina	Pancreatina	Promedio
Azufrado Higuera	De 21.99 a 22.95	De 26.05 a 26.29	De 22.61 a 22.67	De 21.67 a 25.85
Azufrado No-roeste	De 20.43 a 21.93	De 24.79 a 25.27	De 26.89 a 26.93	De 21.46 a 27.3
Azufrado Regional 87	De 20.2 a 20.26	De 25.18 a 27.88	De 17.92 a 18.28	De 17.24 a 26
Promedio	De 20.87 a 21.71	De 25.34 a 26.48	De 22.47 a 22.63	De 20.32 a 26.18

\*La proteína recuperada se representa en base a la proteína al inicio de la hidrólisis.

el porcentaje de recuperación más alto (de 26.89 a 26.93), seguido de Azufrado Regional 87 con termolisina (de 25.18 a 27.88) y Azufrado Higuera con termolisina (de 26.05 a 26.29).

**3. Caracterización antihipertensiva de los hidrolizados de frijol.** Se obtuvieron nueve caracterizaciones de la actividad antihipertensiva, que corresponden a los hidrolizados proteicos de las tres variedades de frijol (Azufrado Higuera, Azufrado Noroeste y Azufrado Regional 87) tratados con las enzimas alcalasa, termolisina y pancreatina.

Se determinó en qué medida los distintos tratamientos son capaces de inhibir la acción de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA).

Los tres mejores tratamientos fueron Azufrado Higuera hidrolizado con la enzima alcalasa, donde 0.248 microgramos por mililitro presentan un índice de inhibición al 50% (IC50) de la enzima ECA; le siguió Azufrado Regional 87 con pancreatina (a dosis de 0.18 a 0.34 microgramos por mililitro); y en tercer lugar Azufrado Higuera con pancreatina (a dosis de 0.29 a 0.31 microgramos por mililitro). Ver Cuadro 6.

Los resultados obtenidos en el presente proyecto son muy alentadores. Se han reportado valores de IC50 para productos fermentados de soya que van de 80 a 360 microgramos por mililitro, valores mayores inclusive a los reportados para los tratamientos menos efectivos (Azufrado Higuera con termolisina [IC50= 13.12 microgramos por mililitro]). Entre menores sean estos valores más eficaces se consideran, dado que será necesario consumir una menor cantidad para tener un efecto positivo en el control de la presión arterial elevada.

En otro estudio sobre péptidos bioactivos aislados del pez *Euphausia superb* se observó que los péptidos identificados Val-Trp presentaron un IC50 de 2.75 microgramos por mililitro, y Leu-Lys-Tyr un IC50 de 4.26 microgramos por mililitro. Estos valores están entre los encontrados en los hidrolizados de frijol, pero no son mejores que los

**Cuadro 6. Concentración para la inhibición del 50% de la actividad de la enzima ECA (IC50, en microgramos por mililitro)\*.**

Variedad	Alcalasa	Termolisina	Pancreatina	Promedio
Azufrado Higuera	De 0.23 a 0.27	De 3.86 a 22.36	De 0.29 a 0.31	De 1.16 a 6.72
Azufrado Noroeste	De 0.3 a 0.34	De 3.53 a 20.47	De 10.79 a 12.25	De 2.21 a 13.69
Azufrado Regional 87	0.30	De 9.1 a 9.5	De 0.18 a 0.34	De -1.22 a 7.8
Promedio	De 0.25 a 0.33	De 9.76 a 13.18	De -1.8 a 9.86	De 5.17 a 5.19

\*Concentración de hidrolizado para obtener el 50% de inhibición de ECA, del promedio de tres ensayos independientes.

tratamientos de las tres variedades con la enzima alcalasa (de 0.25 a 0.30 microgramos por mililitro).

**4. Caracterización antioxidante de los hidrolizados de frijol.** Se obtuvieron nueve caracterizaciones de la actividad antioxidante, que corresponden a los hidrolizados de los tres genotipos de frijol evaluados (Azufrado Higuera, Azufrado Noroeste y Azufrado Regional 87) tratados con las enzimas alcalasa, termolisina y pancreatina (ver Cuadro 7).

**Cuadro 7. Índice de actividad antioxidante de los hidrolizados\*.**

Variedad	Alcalasa	Termolisina	Pancreatina	Promedio
Azufrado Higuera	De 1.022 a 1.082	De 1.349 a 2.429	De 0.983 a 1.095	De 0.825 a 1.829
Azufrado Noroeste	De 1.032 a 1.072	De 1.022 a 1.042	De 1.005 a 1.043	De 1.017 a 1.055
Azufrado Regional 87	De 1.037 a 1.137	De 0.988 a 1.088	De 0.98 a 1.032	De 0.994 a 1.096
Promedio	De 1.041 a 1.101	De 0.81 a 1.83	De 0.988 a 1.058	De 0.824 a 1.448

\* Cifras promedio de tres ensayos. Valores mayores a 1 indican actividad antioxidante.

Se evaluó la capacidad de inactivar el reactivo DPPH (agente oxidante). Este ensayo es empleado para determinar la actividad antioxidante en alimentos para consumo humano, principalmente.

En este ensayo los tratamientos con valores mayores a 1 se consideran que presentan actividad antioxidante. El mejor tratamiento fue Azufrado Higuera con la enzima termolisina (de 1.349 a 2.429), seguido de los tratamientos con alcalasa de Azufrado Regional 87 (de 1.037 a

1.137) y Azufrado Higuera (de 1.022 a 1.082) y de Noroeste (de 1.032 a 1.072).

## CONCLUSIONES

1. Del material Azufrado Higuera se obtuvo un mayor rendimiento de aislado proteico (13%) que los otros materiales, mientras que el aislado proteico de Azufrado Regional 87 presentó el mayor contenido de proteína (66.7%), seguido de Azufrado Higuera (61%).

De acuerdo con estos resultados, el material más idóneo para su procesamiento sería Azufrado Higuera, pues la combinación de rendimiento y contenido de proteína en los aislados generaría más hidrolizado con actividad nutracéutica.

2. Azufrado Noroeste fue el que presentó el porcentaje de recuperación más alto, con la enzima pancreatina (de 26.89 a 26.93%); seguido de Azufrado Regional 87 con termolisina (de 25.18 a 27.88%); y Azufrado Higuera con termolisina (de 26.05 a 26.29%).

Estos valores solamente indican cuánto hidrolizado se obtuvo durante el procesamiento de la hidrólisis. Las proteínas que no fueron hidrolizadas se eliminaron, con lo que se obtuvieron principalmente péptidos y proteínas parcialmente hidrolizadas o pequeñas.

En el presente trabajo, a pesar de que alcalasa generó los porcentajes de péptidos más bajos se reporta por ser la enzima que posee más actividad de las tres empleadas en el proyecto.

3. Respecto a la actividad antihipertensiva, los mejores valores de inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina se obtuvieron al tratar los distintos aislados de frijol con alcalasa (0.291 microgramos por mililitro); seguido de pancreatina (4.025 microgramos por mililitro) y, por último, con termolisina (11.473 microgramos por mililitro).

4. La mejor combinación frijol-enzima para la actividad antihipertensiva fue la siguiente: Azufrado Higuera hidrolizado con la enzima alcalasa, donde se obtuvo un IC50 de 0.248 microgramos por mililitro, por lo que en la segunda etapa del proyecto ésta será la combinación empleada para determinar el compuesto activo.

5. Resulta de interés mostrar que Azufrado Regional 87 y Azufrado Higuera con pancreatina presentaron muy buenos valores de IC50 (0.262 y 0.300 microgramos por mililitro). Estos resultados deberán corroborarse en ensayos en vivo para establecer que el consumo directo de estos materiales promueve un control de la presión arterial.

6. Aunque todos los tratamientos presentaron actividad antioxidante, el mejor fue Azufrado Higuera con termolisina (de 1.349 a 2.429). Valores mayores a 1 se consideran con actividad antioxidante.

7. Al considerar el rendimiento y contenido de proteína de aislado proteico, los valores de actividad antihipertensiva y antioxidante, Azufrado Higuera resulta el mejor material y el que posee la más elevada propuesta nutracéutica.

## BIBLIOGRAFÍA

Adams, M. W.; D. P. Coyne; J. H. Davis; P. H. Gram and C. A. Francis. 1985. "Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)", en *Grain Legume Crops*. Summerfield, R y E. H. Roberts (editores). Londres. Pág. 433.

Allen, O. N. and E. K. Allen. 1981. *The leguminosae: A source book of characteristics, uses and modulation*. Londres.

Asociación Mexicana de Secretarios de Desarrollo Agropecuario. 2007. *Frijol. Planes rectores nacionales*. Asociación Mexicana de Secretarios de Desarrollo Agropecuario, A. C. <<http://www.amsda.com.mx/PRNacionales/Nacionales/PRNfrijol.pdf>>.

Bressani, R. 1975. "Legumes in human diets and how they might be improved", en *Nutritional Improvement of food Legumes by breeding*. Milner Gulland (editor). New York. Pág. 15.

Carpenter, K. J. 1981. "The nutritional contribution of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) in perspective", *Food Technology*. Pág. 77.

Cervera, C. P. y B. J. Ortiz. 2004. "Tratamiento de la hipertensión arterial en un área de salud: auditoría a partir de los datos de la consulta de enfermería", *Farmacéutico de Atención Primaria*. 2:3-11.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. 2006. *Resultados por entidad federativa, Sinaloa*. Primera edición. <[www.insp.mx/ensanut/ensanut2006.pdf](http://www.insp.mx/ensanut/ensanut2006.pdf)>.

ESACI. 2000. *The Foods for Specified Health Use (FOSHU) System in Japan Present Status and Future Outlook*. Proveniente del Simposium IUFOST Japan A Mainstay of the Functional Food Science in Japan.

Ferrer, L. B. y S. J. Dalmau. 2001. "Alimentos funcionales: prebióticos", *Acta Pediátrica Española*. 59:150-155.

Gerster, H. 1995. "Beta-caroteno, vitamin E and vitamin C in different stages of experimental carcinogenesis", *Eur J Clin Nutr*. 49:155-168.

Gupta, Y. P. 1981. "Toxic substance in raw pulses", *Indian Farming*. 31:9.

Hatanaka, A.; H. Miyahara; K. I. Suzuki and S. Sato. 2009. "Isolation and identification of antihypertensive peptides from antarctic krill tail meat hydrolysate", *J. Food Sci*.

Hughes, J. S. 1991. "Potential contribution of dry bean dietary fiber to health", *Food Technology*. Pág. 122.

Instituto Mexicano del Seguro Social. 2007. *En México más de 15 millones de personas sufren de hipertensión arterial sistémica*. Comunicado de la Coordinación de Comunicación Social. Número 280. <<http://www.imss.gob.mx/NR/rdonlyres/1B5CD42B-75D5-421A-9B30-6063EFF56B7B/0/bol280.pdf>>.

Li, G. H. ; J.Z. Wan ; G. W. Le and Y. H. Shi. 2006. "Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides isolated from Alcalase hydrolysate of mung bean protein", *J Pept Sci*. Pág. 14.

Mahadevappa, V. G. and P. L. Raina. 1978. "Nature of some Indian legume lipids", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26:1241.

Meiners, C. R.; M. C. Derise; H. C. Lau; S. J. Ritchey and E. W. Murphy. 1976. "The content of nine mineral elements in raw and cooked mature dry legumes", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 24:1126.

Morrow, B. 1991. "The rebirth of legumes", *Food Technology*. 45:96.

Palencia, M. and Yanett. 2002. "Qué son los alimentos funcionales". *Curso de Medicina Naturista*. <[http://www.unizar.es/med\\_naturista/Alimentos%20funcionales.pdf](http://www.unizar.es/med_naturista/Alimentos%20funcionales.pdf)>.

Palencia, M. and Yanett. 2002. "Qué son los alimentos funcionales". *Curso de Medicina Naturista*. <[http://www.unizar.es/med\\_naturista/TABLAS%20ALIMENTOS%20FUNCIONALES.pdf](http://www.unizar.es/med_naturista/TABLAS%20ALIMENTOS%20FUNCIONALES.pdf)>.

Sathe, S. K.; S. S. Deshpande and D. K. Salunkhe. 1984. *Dry beans of Phaseolus. A review. Part 1. Chemical composition: Proteins, CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 20:1.

Sathe, S. K.; S. S. Deshpande and D. K. Salunkhe. 1985. *Dry beans of Phaseolus. A review. Part 1. Chemical composition: Carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids, CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 21:41.

Sgarbieri, V. C. and M. A. Martins-Galeazzi. 1990. "Quantification of some chemical and biochemical characterization of nitrogenous substances from varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L)". *Journal of Food Biochemistry*. 14:233.

Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera-Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2008. <<http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>>.

Tannenbaum, A. and H. Silverstone. 1953. "Nutrition in Relation to Cancer", *Adv Cancer Res*. 1:451-501.

Thomson, C.; A. Bloch and C. M. Hasler. 1999. "Position of The American Dietetic Association: Functional foods", *Journal of American Dietetic Association*. 10:1280-1281.

Vioque, J. and F. Millán. 2006. *Los péptidos bioactivos en alimentación: nuevos agentes promotores de salud*. Centro Tecnológico Nacional de la Conserva y Alimentación. 26:103-107.

Vioque, J.; J. Pedroche; M. M. Yust; H. Lqari; C. Megías; J. Girón-Calle; M. Alaiz and F. Millán. 2006. "Bioactive peptides in storage plant proteins", *Brazilian Journal of Food Technology*. 3:99-102

World Health Organization Expert Committee. 1996. "Hypertension Control", *WHO Technical Report Series*. Number 862. Geneva. <<http://www.who.ch/pll/dsa/trs/trs862/en/trs862e.html>>.

World Health Organization. 2002. "Quantifying selected mayor risks to health", *The World Health Report*. World Health Organization. <[www.who.int/pub/en](http://www.who.int/pub/en)>.

---

**Figura 16. Ejemplos de frutos de papaya aptos para ser cosechados.**

---

10 Una libra equivale a 460 gramos.

















