

COMPOSICIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE LAS PRINCIPALES VARIEDADES DE FRIJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) QUE SE CULTIVAN EN EL ESTADO DE JALISCO, MÉXICO

M.T. Espino-Sevilla^a, L.R. Pérez-Bernal^a, M.Z. Reyna-Villela^a, D. Rojas-Bravo^a, E.C. Lugo-Cervantes^{a,b}

^a Universidad de Guadalajara /Centro Universitario de la Ciénega. ^b Centro de Investigación y Asistencia y Tecnología en Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). *tere9espino@yahoo.com.mx

RESUMEN

El frijol es una de las principales fuentes de proteínas dentro de la dieta de los Mexicanos muy arraigado por el paso de los siglos. Esto, aunado a la alta disponibilidad y valor nutricional de esta leguminosa la sitúan como un alimento estratégico. Composición de cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Mexicano (Jalisco), y la caracterización de las proteínas fue determinadas. Los resultados mostraron que el contenido proteico (AOAC) de dichas variedades fue de 17.77, 24.18, 25.51 y 21.81% para las variedades Flor de Junio, Garbancillo, Peruano y Zarco respectivamente. El fraccionamiento (Osborne) mostró valores representativas de entre 44 y 75% de albuminas para las cuatro variedades, así como en segundo predominaron la fracción de glutelinas entre 19.5 – 37%. Los patrones de electroforesis (SDS-PAGE), (Laemmli 1977), fueron realizados a cada fracción de cada variedad, así como para su aislado proteico, obteniéndose similitud en la mayoría de los geles de acrilamida, predominando bandas de peso molecular entre 15 y 20 kDa, otras bandas predominaron alrededor de ~35 kDa para la mayoría de las fracciones de las cuatro variedades. Los resultados obtenidos en cuanto a contenido proteico fueron superiores a otras variedades estudiadas y similares en cuanto a los patrones electroforéticos con otras semillas investigadas.

ABSTRACT

Common Beans are one of the main sources of protein in the diet of Mexicans. This along with high availability and nutritional value of this legume place it as a strategic food. The composition and protein characterization of four Mexican varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was determined. The results showed that the protein content (AOAC) of these varieties was 17.77, 24.18, 25.51 and 21.81% for June Flor, Garbancillo, Peruvian and Zarco varieties respectively. Fractionation (Osborne) representative showed values between 44 and 75% for the four varieties albumins and second predominated glutelin fraction between 5.19 - 37%. Patterns electrophoresis (SDS-PAGE) (Laemmli 1977), were performed on each fraction of each variety, as well as for protein isolate, obtaining similarity in most of the acrylamide gels, predominantly bands of molecular weight between 15 and 20 kDa predominated other bands around ~35 kDa for most fractions of the four varieties. The results obtained in terms of protein content than other varieties studied and similar in electrophoretic patterns with other seeds investigated jurisdiction.

Palabras clave: Caracterización, *Phaseolus vulgaris* L, proteínas

Área: Cereales, leguminosas y oleaginosas

INTRODUCCIÓN

En México el frijol ha sido el grano fundamental de la dieta de la población por muchos siglos. Las características distintivas de los genotipos frijol pueden ser el resultado de la composición de proteica de cada uno de ellos y el estudio de las proteínas es una herramienta que incluye la caracterización de la expresión de las proteínas y de sus propiedades funcionales y estructurales. Permitiendo así obtener la calidad nutricional de las semillas, así como determinar propiedades benéficas para la salud.

El consumo del frijol es un hábito alimenticio profundamente arraigado en las poblaciones de la mayoría de los países latinoamericanos. Esto, aunado a la alta disponibilidad y valor nutricional de esta leguminosa la sitúan como un alimento estratégico. Sin embargo, a pesar de ser una importante fuente de proteínas, fibra dietética y compuestos bioactivos, su consumo es básicamente en forma de grano integral, con lo cual se limita su utilización como alimento o ingrediente alimenticio.

El presente trabajo estudiará la composición química, caracterización de las proteínas de las principales variedades de frijol (*P. vulgaris*) cultivadas en Jalisco, a fin de sugerir su uso como ingrediente en el desarrollo de nuevos productos, así como dar a conocer la importancia que estas revisten en la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la muestra

La semilla se limpió y se molió para posteriormente ser almacenada a 4 °C hasta su utilización.

Fraccionamiento proteico por el método de Osborne

Partiendo de harina, en una relación 1:10 w/v, se realizó una extracción secuencial a las condiciones posteriormente descritas para cada fracción:

Albúminas: Se tomó 1g de harina desengrasada y 10ml de agua Milli Q, se agitó durante 2 h a una temperatura de 4°C; posteriormente se centrifugó a 13,000xg por 15 min a 4°C, se decantó y se guardó el sobrenadante como la fracción de albúminas. Se realizaron dos extracciones uniéndose los dos sobrenadantes para su posterior estudio.

Globulinas 7S: El pellet ya obtenido de la primera extracción (albúminas) se le adicionó 10 ml de buffer [NaCl 0.1M; K₂HPO₄ 10 mM; EDTA 1mM] ajustando a pH de 7.5; de igual manera se agitó durante 2 h a 4°C y centrifugó a 13000 xg por 15 min a 4°C.

Globulinas 11S: El pellet obtenido de la segunda extracción (globulinas 7S) se le adicionó 10 ml de buffer [NaCl 0.8M; K₂HPO₄ 10 mM; EDTA 1mM] ajustando a pH de 7.5, de igual manera se agitó durante 2h a 4°C y centrifugó a 13000 xg por 15 min. a 4°C.

Prolaminas: El pellet obtenido de la tercera extracción (globulinas 11s) se le adicionó 10 ml de buffer [ETOH 70%]; de igual manera se agitó durante 2 h a 4°C y centrifugó a 13000 xg por 15 min. a 4°C.

Glutelinas: El pellet obtenido de la cuarta extracción (prolaminas) se le adicionó 10 ml de buffer [NaOH 0.1M]; de igual manera se agitó durante 2 h a 4°C y centrifugó a 13000 xg por 15 min. a 4°C.

Después de la obtención de cada fracción se dializó contra agua Milli Q por 72 hrs, con 3 cambios de agua cada 24 h. Finalmente se liofilizó cada fracción y almacenó a 4°C para posterior análisis. La proteína de las diferentes extracciones se cuantificó por triplicado mediante el método de Bradford (1976), usando curva de calibración con albúmina de suero bovino.

Patrón de Electroforesis SDS-PAGE

Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) se llevó a cabo de acuerdo al método de Laemmli (1970). En geles de poliacrilamida al 13% (w/v) y se corrió en una cámara miniprotean III (BioRad). Las condiciones fueron a 160 V por 3 minutos y posteriormente a 120V por 80min. El peso molecular se calculó utilizando estándar de peso molecular conocido de amplio rango (BioRad). Los geles fueron teñidos con Azul de Commassie R-250 (Sigma).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de la harina integral es mostrada en la tabla I. En cuanto al contenido proteico fue el siguiente: 17.79% en el caso del Flor de Junio, el 24.19% para el Garbancillo, el 25.53 5 % en el caso del frijol Peruano y el 21.83% para la variedad Zarco. Estos valores fueron superiores a dos variedades estudiadas por Raya-Pérez, *et al.* (2014) con porcentajes de 16.47 y 14.53%. Del total de proteína extraída, la fracción predominante en todas las variedades fue la albumina la cual se encuentra entre el 75 – 44%, y le segunda las glutelinas entre 37-19.5% (ver Tabla II). Estos valores fueron muy similares a las variedades de Bayo berrendo y pazcuareño, estudiadas por Raya-Pérez, *et al.* (2014). Por otro lado la variedad del frijol peruano mostro el contenido proteico más alto (25.54%) y predominando con mayor contenido proteico la fracción de albuminas.

El patrón de electroforesis para las diferentes variedades en estudio mostró similitudes entre ellas, predominando bandas de peso molecular de entre 20 y 37 Kda para las diferentes fracciones de la variedad de peruano; bandas de 35 y 45kDa para las fracciones de globulinas 7 y 11S, bandas de 32kDa para la fracción de albuminas y bandas de 20kDa para la fracción de glutelinas. La fracción de prolaminas en la mayoría de los geles de las diferentes fracciones no presentó bandedo por su baja concentración. Lo que concuerda con la baja concentración mostrada en el fraccionamiento.

Tabla I Composición proximal de cuatro variedades nativas de frijol (*Phaseolus Vulgaris L*) del estado

de Jalisco (% peso)						
Variedad	Humedad	Proteína	Cenizas	Grasas	Carbohidratos	Fibra cruda
<i>Flor de Junio</i>	9.96	17.79	8.59	1.03	62.63	2.36
<i>Garbancillo</i>	9.51	24.19	3.65	1.11	61.54	2.96
<i>Peruano</i>	9.0	25.53	3.77	1.07	60.63	3.18
<i>Zarco</i>	8.68	21.83	3.78	1.32	64.39	3.07

Tabla II Fraccionamiento Proteico de cuatro variedades nativas de frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L) del estado de Jalisco (%)					
Variedad	Globulinas				
	Albuminas	G 7S	G11S	Prolaminas	Glutelinas
<i>Flor de Junio</i>	44.8	10.48	5.32	3.37	35.99
<i>Garbancillo</i>	50.08	8.92	4.84	1.29	34.07
<i>Peruano</i>	75.37	3.06	1.32	0.72	19.5
<i>Zarco</i>	50.26	7.67	4.28	0.74	37.03

BIBLIOGRAFÍA

- Bressani, R. 1975. Legumes in human diets and how they might be improved. *In: Nutritional improvement of food legumes by breeding. Ed. M. Milner John Wiley & Sons, N.Y.. pp. 15-42.*
- Champ, M. (2002). Grain legumes and health. A workshop in 2001. *Grain Legum.* 35:13-14
- Deshpande, S. S., and Demondaran, S. 1989. Structure- digestibility relationship of legume 7S proteins. *Journal of Food Science.* 54(1): 108-13.
- Guzmán-Maldonado, S.H., Acosta-Gallegos, J.A., Alvarez-Muñoz, M. A., García-Delgado, S., Loarca-Piña, G. 2002. Calidad Alimentaria y potencial nutracético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agricultura Técnica en México* 28(2):159-173.
- Lépiz- Ildfonso, R., Sánchez-Preciado, S., González- Ávila, A., López-Alcocer, E., y Rodríguez-Guzmán, E. 2011. Amapolo' y 'mulato', nuevas variedades de frijol para el estado de Jalisco, México. *Fitotec. Mex.* Vol. 34 (4).
- Ma, Y., and Bliss, F.A. 1978. Seed proteins of common bean. *Crop Science.* 18:431-37.
- Martínez-Domínguez, B., Ibáñez-Gómez, M.B., Rincón-León, F. 2002. Ácido fítico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 52(3):219-231.
- Osborn, T. C., y Brown, J.W.S. 1988. Genetic control of bean seed protein. *Critical Reviews in Plant Science.* 7(1):93-116.
- Osborne, T.B.(1924). The vegetable proteins. *In Monographs on Biochemistry.;* Loongmans, Green: 2nd ed. New York.

- Romero, J., y Ryan, D.S. 1978. Susceptibility of the major protein storage of the beans, *Phaseolus vulgaris* L., to in vitro enzymatic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26(4):784-8.
- Reynoso Camacho, R., Ríos Ugalde, M.C., Torres Pacheco, I., Acosta Gallegos, J.A., Palomino Salinas, A.C., Ramos Gómez, M., González Jasso, E., Guzmán Maldonado, S.H. 2007. El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Agricultura Técnica en México* 33(1): 43-52.
- Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire. A. R., O'Brien, N. M. 2007. Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods Human Nutrition* 62:85–91
- Sathe, S. K., Deshpande, S. S., y Salunkhe, D. K. 1984. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part. 1. Chemical composition: Proteins. *Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition*. 20(1):1-46.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2010). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Cierre de la Producción Agrícola por Cultivo en Jalisco. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>. (Marzo 2011).
- Raya-Perez, Juan Carlos, Gutierrez-Benicio, Glenda Margarita, Ramirez-Pimentel, Juan Gabriel, Covarrubias-Prieto, Jorge y Aguirre-Mancilla, César Leonardo. (2014). Caracterización de proteínas y contenido mineral de dos variedades nativas de frijol de México. *Agronomía Mesoamericana*. 25(1):1-11
- Sun, S. M., y Hall, T. C. 1975. Solubility characteristics of globulins from *Phaseolus vulgaris* in regard to their isolation and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 23(2):184-189
- Velázquez J. A. y Giraldo P. A. 2005. Posibilidades competitivas de productos prioritarios de Antioquia frente a los acuerdos de integración y nuevos acuerdos comerciales. Informe de Avance. Gobernación de Antioquia. (En línea). Disponible en:http://www.gobant.gov.co/organismos/scompetividad/doc_estudios/analisisdeposibilidadescompetitivasdeproductosprioritarios/frijol.pdf.
- Ulloa, J.A., Rosas-Ulloa, P., Ramirez-Ramirez, J.C., y Ulloa-Rangel, B. E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fotoquímicos. *Revista fuente*. 3(08).