

MICROMETODO PARA DETERMINAR FIBRA CRUDA EN EJOTE Y SEMILLA DE FRIJOL

Carmen Jacinto Hernández¹

RESUMEN

En este estudio se presenta una adaptación de un micrométodo para analizar el contenido de fibra cruda en alimentos, donde se eviten algunas de las limitaciones asociadas con el método de la AOAC. Se realizaron diferentes pruebas a fin de establecer el tratamiento para acondicionar muestras de ejote y semilla de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) así como el volumen de reactivos y tiempos óptimos de reacción. Se encontró que con el micrométodo se requieren muestras de 30 mg de ejote deshidratado y 100 mg de semilla para obtener resultados confiables. El uso del micrométodo implica un menor gasto de reactivos y permitió analizar ocho muestras por duplicado en un período de ocho horas, mientras que por el método de la AOAC se analizaron tres muestras por duplicado en un tiempo similar. No existieron diferencias significativas entre los resultados obtenidos por ambos métodos. Debido a las pequeñas cantidades de muestra que se analizan con el micrométodo resulta fácil obtener una buena homogeneización del material.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Material no-digerible, *Phaseolus vulgaris* L., vaina de frijol, análisis químicos.

SUMMARY

In this study an adaptation to a micromethod for analyzing crude fiber content in food is presented. This technique was designed to avoid some of the drawbacks associated with the AOAC method. Several tests were performed to establish a conditioning treatment for pods and seed samples of

common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), as well as reagent volumes and optimal reaction periods. It was found that samples of 30 mg of dehydrated pods bean material and 100 mg of seeds bean are needed to obtain reliable results. The micromethod required smaller amounts of reagents than the AOAC method and was faster, allowing analysis in duplicate of eight samples in eight hours, as compared to three samples in duplicate during the same period with the AOAC method. The difference between the results obtained using the two methods was not significant. The reduced volume required in the micromethod samples allows a good homogenization, an important prerequisite for a reliable analysis.

ADDITIONAL INDEX WORDS

Non-digestible material, *Phaseolus vulgaris* L., bean pod, chemical analysis.

INTRODUCCION

La pared celular de las plantas comestibles es un complejo de componentes poliméricos y no poliméricos en asociación estrecha. Yúfera (1979) indica que los polisacáridos: celulosa, hemicelulosa y pectinas, junto con el almidón, confieren a las leguminosas sus características de textura. Amen y Spiller (1984) señalan que los constituyentes poliméricos de las paredes celulares vegetales se han agrupado y se conocen como "fibras". Asimismo mencionan que estas fibras vegetales presentan algunas propiedades físico-químicas de importancia potencial en la fisiología nutritiva del hombre.

Painter (1951) indica que en algunos casos la dureza de los tejidos vegetales contribuye a la resistencia de la planta al ataque de insectos, particularmente contra formas inmaduras y reduciendo el ataque de gusanos barrenadores; mencionan, además, que la dureza puede ser causada por un alto contenido de fibra.

¹ Investigadora del Laboratorio de Calidad de Proteínas del CIFAP-MEXICO. INIFAP-SARH, Apdo. Postal # 10, C.P. 56230, Chapingo, Méx.

La determinación de fibra cruda es parte del análisis proximal y la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1975), la define como el residuo de un alimento o producto alimenticio después de que se ha tratado una muestra de aproximadamente 2 g con soluciones diluidas de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en ebullición, con posteriores lavados con agua y alcohol.

El método de la AOAC requiere el uso de asbesto con lavado ácido, empleado como testigo por ser material no digerible, que además sirve como vehículo a la muestra durante el análisis; sin embargo, es un reactivo de importación y de producción limitada, por considerarse un agente carcinógeno, lo que reduce su disponibilidad. En las diferentes etapas del tratamiento de la muestra se necesita efectuar lavados para luego filtrar con el fin de recuperar la muestra, lo cual predispone a una pérdida parcial de la misma, reduciendo la precisión y repetibilidad de los datos. Asimismo, en ocasiones no se dispone de cantidades de muestra suficientes para desarrollar este método.

La necesidad de analizar el contenido de fibra cruda en vainas jóvenes y en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) junto con las limitaciones en disponibilidad de asbesto y cantidad de muestra, motivaron el presente trabajo, cuyo objetivo fue evaluar y adaptar un micrométodo que represente otra alternativa para el análisis de fibra cruda en material vegetal. El micrométodo propuesto es una adaptación al empleado por los Laboratorios de Investigación en Granos de la Comisión Canadiense del Grano¹ (CGC)

¹ Información personal, M. Sc. Lynda Burch, Investigadora de la Sección de los Laboratorios de Granos de la CGC.

para determinar fibra cruda en semillas oleaginosas. En este trabajo se hace un estudio del micrométodo en cuestión y una comparación de éste con el método de la AOAC.

MATERIALES Y METODOS

Se evaluó el contenido de fibra cruda en la semilla de dos variedades de frijol: Negro 150 y Bayomex y en el ejote de las mismas dos variedades, así como el Canario-107. Estos materiales fueron cultivados en Santa Lucía de Prías, Texcoco, Méx., durante el ciclo PV-1990. Los análisis se realizaron en el Laboratorio de Calidad de Proteínas del CIFAP-MEXICO ese mismo año.

Las determinaciones fueron realizadas según el método descrito en el manual de la AOAC y el micrométodo propuesto, con ocho repeticiones cada una.

Preparación de la muestra

Semilla de frijol. Se molió en un molino Cyclotec con malla de perforaciones de 0.8 mm. Se determinó el contenido de humedad por triplicado en cada muestra según el método AOAC (1975). Posteriormente se pesaron muestras de 100 mg para efectuar la determinación de fibra cruda por el micrométodo; el volumen de solución de dicromato de potasio fue de 5 ml y el tiempo de digestión con este reactivo fue de 20 minutos, en un baño de agua en ebullición, tal como lo describe el método original.

Ejote. El material en verde se cortó con bisturí en trozos de aproximadamente 4 x 4 mm y se determinó el contenido de humedad por triplicado según el método AOAC (1975). Asimismo se pesaron ocho muestras de 100 mg y ocho de 150 mg, para determinar fibra cruda por el micrométodo.

Una segunda prueba con el micrométodo se realizó deshidratando el ejote ya cortado durante 24 h a 65°C. Se emplearon muestras de 20, 25 y 35 mg. Para ambos casos se evaluaron volúmenes de dicromato de potasio de 5 y 7 ml y tiempos de digestión con este reactivo de 20, 30, 40 y 50 minutos.

Análisis

Método AOAC. Se emplearon muestras de 2.0 g de la harina de frijol, 6.0 g del ejote fresco y 1.0 g del ejote deshidratado.

Micrométodo. Las muestras se colocaron en tubos de 25 ml de capacidad. El número de muestras que se pueden analizar simultáneamente depende del número de tubos que la centrífuga pueda portar, en este caso se analizaron 16 muestras simultáneas.

A cada tubo se le añaden 5 ml de ácido sulfúrico al 1.25% v/v y se colocan en una gradilla inmersa en un baño de agua en ebullición. La evaporación del reactivo se minimiza al colocar canicas en la boca de los tubos. La ebullición se continúa durante 35 minutos. La gradilla se agita ocasionalmente sin retirarla del baño de agua, para asegurarse que el contenido de los tubos esté sumergido en el reactivo. Los tubos se remueven del baño de agua y son inmediatamente centrifugados por 15 minutos a 2800 g. El sobrenadante se remueve con una pipeta que tenga punta delgada. El residuo se lava una vez con agua caliente, se centrifuga y el sobrenadante se remueve.

El mismo procedimiento realizado con el ácido sulfúrico se repite con hidróxido de potasio al 1.25% v/v, pero en esta ocasión el sedimento es lavado con agua dos veces para eliminar el álcali, centrifugando cada vez.

Posteriormente se adiciona al residuo la solución crómica, preparada al disolver 14.7 g de dicromato de potasio en 120 ml de ácido sulfúrico concentrado y esta solución en 160 ml de H₂O; a partir de este paso se conduce un blanco de reactivo por duplicado. Se tapan los tubos y se colocan en baño de agua en ebullición durante 20 minutos o hasta que la muestra sea digerida, o sea, hasta la desintegración total de la misma.

Cada muestra se transfiere a un matraz de 250 ml empleando 2 ml de solución acuosa de ioduro de potasio (1 Normal) disuelta en 100 ml de agua. Las muestras se titulan empleando una solución de tiosulfato de sodio 0.25 N hasta que el color rojizo se torne verdoso, luego se adiciona 2 ml de solución de almidón al 1% y se continúa la titulación. El punto final se manifiesta por un color azul verde claro que dura aproximadamente 30 segundos. El cálculo se efectúa al sustraer los valores de titulación de la muestra de los valores de titulación del blanco de dicromato, considerando la normalidad del tiosulfato y aplicando el factor de corrección constante 6.86.

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{(\text{ml blanco}) - (\text{ml muestra}) \times \text{Normalidad} \times 6.86 \times 100}{\text{Peso seco de la muestra (mg)}}$$

Los resultados obtenidos por los dos métodos se analizaron estadísticamente; en el caso de la semilla de frijol se consideró un experimento factorial 2 x 2, con distribución completamente al azar y ocho repeticiones; los factores estudiados fueron: Métodos (AOAC y Micrométodo) y variedades (Negro-150 y Bayomex). En el caso del ejote el diseño fue completamente al azar con dos tratamientos (Método AOAC y Micrométodo) y ocho repeticiones. La variable

estudiada en ambos casos fue el contenido de fibra cruda. En todos los casos la comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

El tamaño de muestra de semilla de frijol empleado satisfactoriamente para la determinación de fibra cruda con el micrométodo fue de 100 mg, con 20 minutos de digestión y 5 ml de solución de dicromato de potasio, con lo que se obtuvo una adecuada desintegración de la materia orgánica durante la digestión y buena reproducibilidad de los resultados. En el caso del ejote, se obtuvo mayor reproducibilidad en los resultados al emplear el material deshidratado, analizando una muestra de 30 mg con digestión en 7 ml

de solución de dicromato de potasio durante 40 minutos.

El método indicado por la AOAC permitió analizar un promedio de tres muestras por duplicado en un lapso de aproximadamente ocho horas, mientras que por el micrométodo se analizaron ocho muestras por duplicado en el mismo tiempo.

El análisis estadístico de los datos de fibra cruda en semilla de frijol (Cuadro 1) indicó que no hubo diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los resultados obtenidos con el método AOAC y el micrométodo, ni tampoco hubo diferencia en la interacción del método por variedad; sin embargo, sí se encontró diferencia estadísticamente significativa en la concentración de fibra cruda entre la variedad Negro 150 y la Bayomex.

Cuadro 1. Comparación de dos métodos para el análisis de fibra cruda (%) en semilla de frijol¹.

Repetición	Negro 150		Bayomex	
	Método AOAC	Micrométodo	Método AOAC	Micrométodo
I	4.09	4.12	3.60	3.60
II	4.11	4.20	3.92	3.70
III	4.17	4.20	3.97	3.70
IV	4.17	4.29	3.98	3.77
V	4.26	4.29	4.05	3.77
VI	4.31	4.46	4.06	3.77
VII	4.37	4.46	4.10	3.86
VIII	4.43	4.46	4.11	4.01
Promedio	4.24	4.31	3.97	3.77
Desv. estándar	0.12	0.14	0.16	0.12
C.V. (%)	2.92	3.14	4.15	3.35

¹ Datos en base seca.

En el contenido de fibra cruda en ejote (Cuadro 2) tampoco se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre métodos. Sin embargo, en este órgano es importante tomar en cuenta que el éxito de la determinación depende en gran medida de la eficiencia en la homogeneización del material y de la representatividad de la muestra, procurando que los ejotes sean de igual tamaño (grado de desarrollo) y que la parte muestreada (centro u orilla) sea la misma en todos los casos.

Cuadro 2. Comparación de dos métodos para el análisis de fibra cruda¹ (%) en ejote.

Repetición	Método	
	AOAC	Micrométodo
I	13.95	13.95
II	14.01	14.01
III	14.03	14.29
IV	14.39	14.29
V	14.60	14.29
VI	14.62	14.58
VII	14.75	14.88
VIII	15.09	15.15
Promedio	14.43	14.43
Desv. estándar	0.41	0.42
C.V. (%)	2.83	2.88

¹ Datos en base seca.

Por lo anterior se concluye que el uso del micrométodo es recomendable ya que en forma confiable permite analizar un mayor número de muestra por unidad de tiempo. Este método tiene la ventaja de no requerir asbesto y además emplea una menor cantidad de muestra; por consiguiente hay un menor gasto de reactivos en comparación con el método descrito por la AOAC.

BIBLIOGRAFIA

- Amen, R.J. and G.A. Spiller. 1984. Tecnología de las fibras alimenticias. En: Elementos de Tecnología de Alimentos. Desrosier, N.W. (ed.), AVI Pub. C. Ed. Continental. México. pp. 49-51.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1975. Horwitz. (ed.), Washington, D.C. USA. pp. 136-137.
- Painter, R.H. 1951. Insect Resistance in Crop Plants. The Macmillan Co., U.S.A. 520 p.
- Yúfera E., P. 1979. Química Agrícola III. Alimentos. Ed. Alhambra. pp. 134-137.