



Universidad Veracruzana

Instituto De Ciencias Básicas

**Compuestos fenólicos y actividad antioxidante
en testa y grano de 54 poblaciones nativas de
frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Tesis

**Para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias Alimentarias**

Presenta:

L. N. Yatzil Denih García Díaz

Directores de Tesis:

Dra. Elia Nora Aquino Bolaños, ICB-UV

Dr. José Luis Chávez Servia, CIIDIR-Oaxaca-IPN

**Xalapa de Enríquez, Veracruz, México
Septiembre, 2016**



La presente tesis titulada

"Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de testa y grano de 54 poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)",

Realizada por la

L.N. YATZIL DENIH GARCÍA DÍAZ

Ha sido aprobada por el comité de evaluación de tesis, y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Alimentarias

Otorgando su autorización como jurado para ser presentada y defendida oralmente el 23 de septiembre de 2016.

Dr. Iñigo Verdalet Guzmán

Dra. Elvia Cruz Huerta

Dr. José Cruz Carrillo Rodríguez

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana, bajo la dirección de la Dra. Elia Nora Aquino Bolaños y el Dr. José Luis Chávez Servia (Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca), y forma parte del proyecto CONACYT-2015-01-119: "Alimentos y productos de maíz y frijol pigmentados con alto valor nutricional para las comunidades oaxaqueñas de alta marginación".

DEDICATORIAS

Dedico este trabajo a mis padres **Roberto García** y **Ofelia Díaz Marín** quienes me han brindado su amor, apoyo y comprensión en cada momento de mi vida.

A mis hermanos **Erina** y **Roberto** quienes me han motivado a ser mejor persona y me dan su cariño.

A mi mejor amiga **Ilse** que siempre me ha brindado su amistad incondicional y me ha apoyado en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca proporcionada.

A la **Dra. Elia Nora Aquino Bolaños** por su confianza, apoyo y consejos para la realización de este trabajo.

Al **Dr. José Luis Chávez Servia** por su colaboración y apoyo para la realización de este trabajo y por los consejos que me brindó.

Al **Dr. Iñigo Verdalet Guzmán** quien siempre me guio con sus consejos para tomar las mejores decisiones sobre mi formación académica y por su apoyo incondicional.

A la **Dra. Elvia Cruz Huerta** y al **Dr. José Cruz Carrillo Rodríguez** por sus acertadas observaciones y aportaciones.

A **Juan Pablo** por brindarme su cariño, comprensión, apoyo, consejos y amistad incondicional.

A **Moni** por siempre brindarme su amistad, apoyo y aconsejarme en los momentos difíciles.

A **Ramón, Arelly y Liliana** por su amistad, entusiasmo, disposición y alegría durante la realización de este trabajo.

A los alumnos de servicio social y residencias, **Karen, Ale, Edgar, Alma, Kari y Ely** por su compañerismo para la realización de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Tabla de contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Origen del frijol	4
2.2 Especie <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	5
2.3 Taxonomía.....	5
2.4 Morfología de la planta del frijol	6
2.4.1 Morfología del grano de frijol	6
2.4.2 Flor de frijol.....	7
2.4.3 Suelo para el cultivo	7
2.5 Clasificación de acuerdo a sus características	8
2.5.1 Color.....	8
2.5.2 Tamaño	8
2.5.3 Características morfológicas del grano	9
2.6 Distribución de frijol en el mundo.....	9
2.6.1 Producción de frijol en México.....	10
2.7 Propiedades nutritivas del frijol	11
2.7.1 Proteína y aminoácidos	12
2.7.2 Fibra dietética.....	14
2.7.3 Vitaminas y minerales	15

2.7.4 Propiedades no nutricionales.....	16
2.8 Actividad antioxidante	17
2.9 Compuestos fenólicos.....	18
2.9.1 Flavonoides	19
2.9.2 Antocianinas	19
2.10 Clasificación de compuestos fenólicos de acuerdo a la forma en que se encuentran en el tejido.....	21
2.10.1 Fenoles libres.....	21
2.10.2 Fenoles conjugados.....	22
2.10.3 Fenoles enlazados a la pared celular	23
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
4. OBJETIVOS	25
4.1 General	25
4.2 Específicos.....	25
5. HIPOTESIS	25
6. MATERIAL Y MÉTODOS	26
6.1 Diagrama general de trabajo.....	26
6.2 Material biológico	27
6.3 Caracterización física y química de 54 poblaciones de frijol nativo	28
6.3.1 Tamaño del grano de frijol	28
6.3.2 Peso en cien granos	28
6.3.3 Volumen de cien granos	28
6.3.4 Peso específico.....	28
6.3.5 Parámetros de color.....	29
6.3.6 Humedad	29

6.4 Preparación de los extractos	30
6.4.1 Contenido total de polifenoles.....	30
6.4.2 Flavonoides	31
6.4.3 Antocianinas monoméricas.....	31
6.4.4 Determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH.....	32
6.5 Separación e identificación de compuestos fenólicos libres, conjugados y enlazados por cromatografía líquida de alta resolución.....	32
6.5.1 Extracción de fenoles libres	32
6.5.2 Extracción de fenoles enlazados	33
6.5.3 Extracción de fenoles conjugados	33
6.5.4 Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	33
6.6 Análisis estadístico.....	34
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
7.1 Caracterización física.....	35
7.2 Compuestos con actividad antioxidante en testa y grano	41
7.2.1 Polifenoles totales en testa	41
7.2.2 Flavonoides en testa.....	44
7.2.3 Antocianinas monoméricas en testa	45
7.2.4 Actividad antioxidante en testa	47
7.2.5 Polifenoles totales en grano.....	47
7.2.6 Flavonoides en grano	48
7.2.7 Actividad antioxidante en grano.....	49
7.3 Parámetros de color en testa	50
7.4 Análisis de componentes principales	51
7.5 Identificación de compuestos fenólicos libres, enlazados y conjugados	55

7.5.1 Compuestos fenólicos libres	56
7.5.2 Compuestos fenólicos enlazados y conjugados	58
8. CONCLUSIONES.....	62
9. BIBLIOGRAFÍA	64
10. APENDICE	78

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Hallazgos arqueológicos de las especies <i>Phaseolus</i> spp.	4
Cuadro 2. Taxonomía del frijol propuesta por Lineo en 1753.	5
Cuadro 3. Producción de frijol en los estados de México.	11
Cuadro 4. Análisis proximal de macronutrientes en grano de frijol de diferentes variedades de la especie <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	12
Cuadro 5. Requerimiento diario de aminoácidos en adultos y contenido aproximado de aminoácidos en la especie <i>Phaseolus vulgaris</i> L.	13
Cuadro 6. Contenido de minerales en el frijol	16
Cuadro 7. Clasificación de 54 poblaciones de frijol nativo de acuerdo a su región de origen.....	27
Cuadro 8. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los grupos de origen y por región de las poblaciones para las características físicas y características morfométricas del frijol nativo.....	35
Cuadro 9. Comparación de medias entre regiones de origen vs variedades comerciales para las características morfométricas y parámetros de color.	36
Cuadro 10. Promedio de las características morfométricas de 54 poblaciones de frijol nativo y cuatro variedades comerciales.....	39
Cuadro 11. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los grupos de origen y por región de las poblaciones nativas para los compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa y grano.	41
Cuadro 12. Comparación de medias entre regiones de origen vs muestras comerciales para compuestos fenólicos en testa y grano.....	42
Cuadro 13. Concentración de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y parámetros de color en 54 poblaciones de frijol común.	43
Cuadro 14. Compuestos con actividad antioxidante en grano y testa de 54 poblaciones de frijol nativo.....	51

Cuadro 15. Valores y vectores propios de los dos primeros componentes principales (CP) de la descripción de 54 poblaciones de frijol nativo con base a las variables de compuestos con actividad antioxidante y parámetros de color.	52
Cuadro 16. Relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en testa y el color en 54 poblaciones del frijol nativo.	54
Cuadro 17. Compuestos fenólicos identificados en muestras de frijol nativo de acuerdo al tiempo de retención y espectro de absorbancia.	55
Cuadro 18. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los compuestos fenólicos identificados en las fracciones fenoles libres, enlazados y conjugados en las poblaciones de frijol nativo.	56
Cuadro 19. Comparación de medias entre poblaciones de frijol vs variedad comercial para el contenido de compuestos fenólicos libres.	57
Cuadro 20. Comparación de medias del área bajo la curva de las poblaciones de frijol nativo vs la variedad comercial flor de mayo para los compuestos fenólicos enlazados y conjugados identificados.	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de frijol	6
Figura 2. Semilla de frijol.....	6
Figura 3. Tonalidades de las flores del frijol.....	7
Figura 4. Semilla de frijol de diferentes colores.	8
Figura 5. Tamaño de la semilla de frijol.	8
Figura 6. Partes del grano de frijol.	9
Figura 7. Distribución del cultivo de frijol en el mundo	10
Figura 8. Semilla de frijol de acuerdo a su especie.....	10
Figura 9. Mecanismo de acción de los antioxidantes.....	17
Figura 10. Estructuras de flavonoides presentes en el grano de frijol.....	19
Figura 11. Estructuras de las antocianinas más abundantes en la naturaleza.	20
Figura 12. Estructura de fenoles libres más abundantes en el frijol.	21
Figura 13. Representación de la estructura de la pared celular primaria del material vegetal y la reticulación entre los componentes estructurales y compuestos fenólicos. Celulosa (A), hemicelulosa (B), proteínas estructurales (C), pectina (D), ácidos fenólicos (E) y lignina (F). Fuente: Acosta-Estrada <i>et al.</i> (2014).....	22
Figura 14. Estructura de fenoles conjugados encontrados en el frijol.	23
Figura 15. Esquema general de trabajo.	26
Figura 16. Relación de los componentes principales (CP1 y CP2) de las 54 poblaciones de frijol nativo de acuerdo al color visual del frijol.....	53

Figura A 1. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.....	81
Figura A 2. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.....	82
Figura A 3. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.....	83
Figura A 4. Curva estándar para la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).	84
Figura A 5. Curva estándar para la cuantificación de flavonoides por el método $AlCl_3$ (Zhishen <i>et al.</i> , 1999).	84
Figura A 6. Curva estándar para la determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH (Brand-Williams <i>et al.</i> , 1995).	85
Figura A 7. Esquema de trabajo para la obtención de extractos fenólicos	86
Figura A 8. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a 8 estándares de compuestos fenólicos.....	87
Figura A 9. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles libres de la variedad comercial flor de mayo.	87
Figura A 10. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles enlazados de la población 64.	88
Figura A 11. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles conjugados de la población 17.....	88
Figura A 12. Espectro de absorbancia del ácido clorogénico.	89
Figura A 13. Espectro de absorbancia del ácido vanílico.	89
Figura A 14. Espectro de absorbancia del ácido p-cumárico.....	90
Figura A 15. Espectro de absorbancia del ácido ferúlico.	90
Figura A 16. Espectro de absorbancia de Quercetina.	91
Figura A 17. Espectro de absorción de Catequina.....	91
Figura A 18. Espectro de absorción del ácido elágico.	92
Figura A 19. Espectro de absorción del ácido gálico.	92

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar las características físicas, contenido de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, además de la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos libres, enlazados y conjugados presentes en frijol nativo utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se evaluaron 54 poblaciones de frijol nativo. En las características físicas se observaron diferencias entre las 54 poblaciones de frijol nativo, entre las regiones de origen. El largo del grano de frijol se registró entre 9.23-14.93 mm, el ancho entre 5.10-10.71 mm, el grosor entre 2.55-7.62 mm y para el peso específico un valor de 1.10-1.33 g/cm³. El contenido de polifenoles totales en testa, fue de 1.33-248.97 mg EAG g⁻¹ bs, flavonoides de 0.15-24.23 mg ECat g⁻¹ bs, en antocianinas monoméricas de 0.01-6.76 mg C3G g⁻¹ bs y la actividad antioxidante obtuvo un intervalo de 14.26-1,497.23 μmol Eq. Trolox g⁻¹ bs. En el análisis por RP-HPLC en la fracción de fenoles libres se identificaron el ácido clorogénico, quercetina y ácido vanílico. Así mismo en las fracciones de fenoles enlazados y conjugados se identificaron el ácido ferúlico y *p*-cumárico. Con base en la región de origen no se encontró un agrupamiento de las muestras de acuerdo a su composición en compuestos fenólicos.

Palabras clave: *Phaseolus vulgaris*, polifenoles totales, actividad antioxidante, HPLC.

SUMMARY

The aim of this research was to evaluate the physical characteristics of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces as well as the content of phenolic compounds with antioxidant activity, and the identification and quantification of free, bonded and conjugated phenolic compounds using high performance liquid chromatography (HPLC). A collection of 54 bean populations was evaluated. Among the physical characteristics, differences were observed within and among the population according to their origin regions. Bean's length was registered between 9.23-14.93 mm, width between 5.10-10.71 mm, thickness between 2.55-7.62 mm and for the specific weight a value of 1.10-1.33 g/cm³. The total phenolics content in seed coat was 1.33-248.97 mg GAE g⁻¹ dw, for flavonoids of 0.15-24.23 mg CatE g⁻¹ dw, for monomeric anthocyanins of 0.01-6.76 mg C3G g⁻¹ dw and the antioxidant activity was at an interval of 14.26-1,497.23 μ mol. Trolox Eq g⁻¹ dw. In the analysis by RP-HPLC in the fraction of free phenol chlorogenic acid, quercetin and vanillic acid they were identified. Also in the fractions of bound and conjugated phenols ferulic acid and *p*-coumaric acid identified. According to the origin region no grouping was found of the samples according to their composition of phenolic compounds.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, total phenolicss, antioxidant activity.

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las leguminosas son plantas locales utilizadas como fuente importante de alimentos y son el segundo cultivo después de los cereales que se utiliza como alimento de la agricultura mundial (Akillioglu y *Karakaya*, 2010). La inclusión de los granos en la dieta diaria tiene muchos efectos fisiológicos benéficos sobre el control y la prevención de diversas enfermedades metabólicas como diabetes mellitus, cardiopatía coronaria y cáncer de colon (Romano *et al.*, 2015). Particularmente, el frijol común se ha considerado como agente hipolipidémico debido a sus propiedades para reducir el colesterol, la reducción de la ingesta de alimentos y la inhibición de la absorción intestinal de lípidos (Ramírez-Jiménez *et al.*, 2015).

El grano de frijol es una fuente de carbohidratos, proteínas, lípidos, vitamina B, fibra, minerales y nutraceuticos con alta actividad antioxidante, como flavonoides, antocianinas, polifenoles, taninos, entre otros. Estos compuestos funcionales se han asociado con la prevención de enfermedades crónico degenerativas como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, cáncer de colon, mama, intestino y ovario, con acciones antimutagénicas, vasodilatadoras, antiinflamatorias y anticancerígenas (Reynoso-Camacho *et al.*, 2007; Oomah *et al.*, 2010; Ezeagu *et al.*, 2010; Xu y Chang, 2012; García-Lafuente *et al.*, 2014; Moreno-Jiménez *et al.*, 2014; Romano *et al.*, 2015; Sancho *et al.*, 2015).

Existe una gran variabilidad en las semillas de frijol, el color y el tamaño de la semilla son las dos características de calidad más importantes para los consumidores. El color de la semilla está determinado por la presencia y concentración de flavonoides incluyendo antocianinas y taninos condensados (proantocianidinas) (Aparicio-Fernández *et al.*, 2005).

En las semillas de frijol el grupo de mayor distribución de flavonoides son las antocianinas y sólo se han reportado en las semillas de frijol de color negro y azul-violeta (Aparicio-Fernández *et al.*, 2005).

Estudios previos han puesto de manifiesto el potencial de los flavonoles y las saponinas contra el cáncer hepático y cáncer de colon, por lo cual los compuestos bioactivos provenientes de la testa de semillas de frijol negro podrían utilizarse como suplementos para fortificar alimentos y mejorar el perfil fitoquímico y por consiguiente ejercer beneficios a la salud, como la protección contra el estrés oxidativo y el cáncer de colon (Chávez-Santoscoy *et al.*, 2016a).

La variabilidad genética desarrollada en las formas silvestres y cultivadas de la especie *Phaseolus* así como la recombinación entre genotipos locales e introducidos han ampliado la base genética del frijol común. Aunque el color de la testa de las variedades silvestres se debe a la selección natural causada por el mimetismo de la semilla con el suelo para ser menos visible a los depredadores, durante la domesticación el hombre seleccionó genotipos de frijol adaptados a sus sistemas de producción y con color de grano preferente para satisfacer las necesidades de su consumo (Vargas-Vázquez *et al.*, 2008).

La diversidad genética de las variedades locales se considera la parte más valiosa de la biodiversidad global y se considera de vital importancia para el futuro de la producción mundial. Las variedades tradicionales (variedades locales) son utilizadas directamente por los agricultores como un componente clave en sus sistemas de cultivo (Wood *et al.*, 1997).

Recientemente se ha documentado que las variedades locales tienen rasgos valiosos en términos de adaptación agroecológica, la calidad de cocción, preferencia del consumidor y la resistencia a enfermedades o estrés abiótico (Zhang *et al.*, 2008).

Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue analizar los parámetros físicos como tamaño de grano, color, peso en cien granos, así como también los compuestos fenólicos, actividad antioxidante, e identificar los compuestos fenólicos individuales presentes en el grano de frijol; lo anterior con el fin de caracterizar la amplia variabilidad de granos de frijol nativo y mostrar el potencial de estas poblaciones de frijol local como alimentos funcionales o como ingredientes en la industria alimentaria.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Origen del frijol

En un periodo de 7000 a 8000 años debido a la influencia de las fuerzas evolutivas de mutación, migración y selección empírica practicada por el hombre, el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) evolucionó desde la forma silvestre de hábito trepador y semillas pequeñas distribuida en las tierras altas de Mesoamérica y Zona Andina a la forma actual que se siembra en diversos ambientes y sistemas de producción tradicional y modernos, lo que produjo cambios morfológicos, fisiológicos y genéticos en este cultivo (Cuadro 1). En los aspectos morfológicos, el hombre centró su atención en semillas de mayor tamaño y de colores más atractivos, vainas más grandes y menos dehiscentes; posteriormente, ocurrió la aparición de formas arbustivas y el moteado de la testa en la semilla (Lépiz *et al.*, 2010).

Cuadro 1. Hallazgos arqueológicos de las especies *Phaseolus* spp.

Especie	Nombre común	Edad arqueológica	Lugar (excavaciones)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	-	7000 años	México (Tehuacán)
<i>Phaseolus lunatus</i>	Big lima (pallar)	5300 años	Perú (Chilcas)
<i>Phaseolus acutifolius</i>	Tepari	5000 años	México (Tehuacán)
<i>Phaseolus coccineus</i>	Ayocote	2200 años	México (Tehuacán)
<i>Phaseolus lunatus</i>	Tipo sieva	1400 años	México (Tehuacán)

Fuente: Hidalgo *et al.* (1980)

2.2 Especie *Phaseolus vulgaris* L.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es ampliamente consumido en todo el mundo. Es uno de los cultivos alimenticios de importancia primordial desde el punto de vista económico y social en México. El frijol, junto con el maíz constituyen la dieta de una gran parte de la población mexicana, aportando la mayor parte de proteínas, además de ser una fuente importante de fibra dietética, carbohidratos, vitaminas y minerales, por lo tanto, el consumo de frijol puede aportar múltiples beneficios al organismo humano (Romero-Arenas *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2015a).

El frijol común silvestre se distribuye desde el sur de México hasta los confines del sur de los Andes. Entre los tipos de cultivos existe una gran variación en su hábito de crecimiento entre otras características morfológicas como características de la semilla, la adaptación y el potencial de rendimiento (Romero-Arenas *et al.*, 2013). Este grano se conoce con los nombres de frijol, poroto, alubia, caraota y judía (Voyses, 2000). En náhuatl se le llamaba *etl* o *etle* (frijol) (Frazier, 2006).

2.3 Taxonomía

Dentro de la familia de las leguminosas se encuentra el género *Phaseolus* el cual incluye aproximadamente 35 especies. En el Cuadro 2 se muestra la posición taxonómica de la especie *P. vulgaris*.

Cuadro 2. Taxonomía del frijol propuesta por Lineo en 1753.

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Familia	<i>Fabaceae</i>
Genero	<i>Phaseolus</i>
Especie	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

Fuente: Linné (1753).

2.4 Morfología de la planta del frijol

La planta de frijol (Figura 1) es una enredadera que alcanza entre cincuenta y setenta centímetros de altura. Sus raíces están bien desarrolladas, con una principal o pivotante y muchas otras secundarias; tiene tallos delgados y débiles, a veces con rayas color púrpura. Sus hojas son trifoliadas, es decir, dispuestas de tres en tres, con bordes ovales y estandarte redondeado (SIAP-SAGARPA, 2015).



Figura 1. Planta de frijol.

2.4.1 Morfología del grano de frijol

El fruto es una vaina suavemente curvada y dehiscente; esto significa que se abre naturalmente cuando está madura. Esta vaina puede medir de 10 a 12 centímetros y es de color verde morado o casi negra. En su interior se encuentran de cuatro a diez semillas de frijol que pueden ser ovales o redondeadas, según la variedad y un poco comprimidas (Figura 2) (SIAP-SAGARPA, 2015).



Figura 2. Semilla de frijol.

2.4.2 Flor de frijol

Las flores de la planta del frijol (Figura 3) pueden ser pocas o numerosas, están situadas en racimos axilares o terminales y poseen dos bractéolas. De acuerdo a las diferentes especies de frijol, como *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. Lunatus* las flores tendrán diferente color, cuyas tonalidades son rosa, lila, violeta, blanco, naranja y morada (Hidalgo *et al.*, 1980; Biodiversidad Mexicana, 2011).



Figura 3. Tonalidades de las flores del frijol.

2.4.3 Suelo para el cultivo

La planta es muy susceptible a condiciones extremas. Se ve afectada tanto por el exceso como por la falta de humedad. La temperatura óptima es de 10 a 27 °C y debe sembrarse en suelos de textura ligera, sin encharcamientos. En cuanto al nivel de acidez o alcalinidad del suelo, prefiere los suelos neutrales, ni ácidos ni alcalinos, aunque se comporta bien en los suelos ligeramente ácidos (SIAP-SAGARPA, 2015).

2.5 Clasificación de acuerdo a sus características

2.5.1 Color

Los colores más comunes en la semilla de frijol dependiendo de la variedad son: blanco, crema-beige, amarillo, café-marrón, rosado, rojo, morado y negro (Figura 4). Pueden existir colores puros o en combinaciones especiales en las que hay moteados, con estrías o puntos (Hidalgo *et al.*, 1980).



Figura 4. Semilla de frijol de diferentes colores.

2.5.2 Tamaño

El tamaño se determina por el peso de 100 granos y los materiales se clasifican en tres grupos de la siguiente manera: pequeños (menores de 25 g/100 semillas), medianos (entre 25 y 40 g/100 semillas) y grandes (mayores de 40 g/100 semillas) (Singh *et al.*, 1991; Ulloa *et al.*, 2011).



Figura 5. Tamaño de la semilla de frijol.

2.5.3 Características morfológicas del grano

Esta leguminosa es un grano seco, separado de la vaina. Las principales partes del grano del frijol, son el cotiledón (89%), la testa (10%) y el eje embrionario (1%) (Figura 6). El cotiledón aporta las principales sustancias de reserva como lo son proteínas y carbohidratos. La testa es una barrera de protección para el cotiledón y esta contiene altas concentraciones de compuestos polifenólicos (Dueñas *et al.*, 2006).

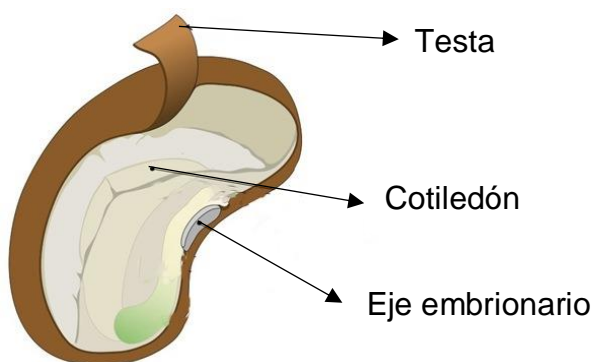


Figura 6. Partes del grano de frijol.

2.6 Distribución de frijol en el mundo

En 2010, la producción mundial de frijol se ubicó en 23.2 millones de toneladas, en la Figura 7 se muestran los principales países productores de frijol en el mundo, Brasil es el primer país productor de frijol con un 16%, seguido de la India con 15.9%, Myanmar con 10.5%, China con 8.9%, ocupando el quinto lugar se encuentra México con 5.8%. El rendimiento promedio mundial se sitúa en 1.27 toneladas por hectárea (Bendaña, 2014).



Figura 7. Distribución del cultivo de frijol en el mundo.

Fuente: Debouck, 1984.

2.6.1 Producción de frijol en México

En México se cultivan principalmente cuatro especies de frijol (Figura 8), frijol común *Phaseolus vulgaris* (A), frijol lima (*P. lunatus*) (B) frijol ayocote (*P. coccineus*) (C) frijol tepari (*P. acutifolius*) (D) los cuales tienen diversidad de tamaños, formas y colores (Biodiversidad Mexicana, 2011).



Figura 8. Semilla de frijol de acuerdo a su especie.

Las variedades más consumidas son azufrado, mayocoba, negro Jamapa, peruano, flor de mayo y flor de junio. Les siguen en preferencia el garbancillo, manzano, negro San Luis, negro Querétaro y pinto. Los menos solicitados son la alubia blanca, bayo blanco, negro Zacatecas, ojo de cabra y bayo berrendo (Biodiversidad Mexicana, 2011).

De acuerdo al último informe de producción de la SAGARPA (2014) (Cuadro 3) los estados más destacados de acuerdo a su porcentaje de producción son Zacatecas, Durango y Sinaloa.

Cuadro 3. Producción de frijol en los estados de México.

Estado	Producción %	Toneladas
Zacatecas	38	355,882.16
Durango	21	192,157.75
Sinaloa	17	161,520.45
Chiapas	7	61,412.08
San Luis Potosí	6	59,818.46
Puebla	5	43,075.68
Veracruz	3	24,077.07
Oaxaca	3	27,873.94

Fuente: SIAP-SAGARPA (2014).

2.7 Propiedades nutritivas del frijol

En relación a la aportación de carbohidratos (Cuadro 4), 100 g de frijol crudo aportan de 52 a 76 g dependiendo de la variedad, cuya fracción más importante la constituye el almidón. El almidón representa la principal fracción de energía en este tipo de alimentos, aunque durante la cocción, una parte de la misma queda en forma no disponible, dado que se transforma en el denominado almidón resistente a la digestión.

Las propiedades nutritivas que posee el frijol están relacionadas con su alto contenido proteico y en menor medida a su aportación de carbohidratos, vitaminas y minerales. Dependiendo del tipo de frijol, el contenido de proteínas varía del 14 al 33%, siendo rico en aminoácidos como lisina (6.4 a 7.6 g/100 g de proteína) y la fenilalanina más tirosina

(5.3 a 8.2 g/100 g de proteína), pero con deficiencias en los aminoácidos azufrados de metionina y cisteína. Sin embargo, de acuerdo a evaluaciones de tipo biológico, la calidad de la proteína del frijol cocido puede llegar a ser de hasta el 70% comparada con una proteína de origen animal a la que se le asigna el 100% (Ulloa *et al.*, 2011).

Dentro de los macronutrientes del frijol, la fracción correspondiente a los lípidos es la más pequeña (1.5 a 6.2 g/100 g), constituida por una mezcla de acilglicéridos cuyos ácidos grasos predominantes son mono y poliinsaturados (Ulloa *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Análisis proximal de macronutrientes en grano de frijol de diferentes variedades de la especie *Phaseolus vulgaris* L.

Macronutriente	Contenido (g por cada 100 g)	Variedad de frijol	Autor
Carbohidratos	53.1	Frijol cranberry	Aremu <i>et al.</i> , 2010.
	59.4	Frijol negro	Garcia <i>et al.</i> , 1997.
	70.83	Frijol azufrado	Reyes-Bastidas <i>et al.</i> , 2010.
Proteína	19.3	Frijol carioca	Batista <i>et al.</i> , 2010.
	20.2	Frijol cranberry	Aremu <i>et al.</i> , 2010.
	24.8	Frijol negro	Garcia <i>et al.</i> , 1997.
Fibra	7.4	Frijol negro	Garcia <i>et al.</i> , 1997.
	10.5	Frijol cranberry	Aremu <i>et al.</i> , 2010.
Lípidos	1.6	Frijol azufrado	Reyes-Bastidas <i>et al.</i> , 2010.
	1.9	Frijol carioca	Prolla <i>et al.</i> , 2010.

2.7.1 Proteína y aminoácidos

Las proteínas son sustancias nutritivas presentes en los alimentos que tienen funciones esenciales como lo es construir los tejidos del cuerpo (músculos, sangre, piel, huesos) especialmente en los periodos de crecimiento. Además de asegurar el buen funcionamiento del organismo, las proteínas de los alimentos proporcionan al organismo los aminoácidos esenciales. Estos son indispensables para formar y reparar órganos y

tejidos, formar hormonas, enzimas, anticuerpos y otros constituyentes orgánicos (FAO, 2001).

Los aminoácidos (AA) son bloques de construcción para las proteínas de los tejidos y sustratos esenciales para la síntesis de muchas sustancias de bajo peso molecular (por ejemplo, glutatión, creatina, carnitina, carnosina, hormonas tiroideas, serotonina, melanina y melatonina) con enorme importancia fisiológica (Wu, 2013).

Los aminoácidos han sido tradicionalmente clasificadas como nutricionalmente "esenciales" o "no esenciales". Los aminoácidos cuyos esqueletos de carbono no son sintetizados por las células animales deben estar siempre en la dieta para mantener la vida y, por lo tanto, son nutrientes esenciales. Los aminoácidos que son sintetizados son prescindibles en la dieta y, por lo tanto, se consideran nutricionalmente "no esenciales" (Wu, 2013). En el cuadro 5, se presenta un análisis aproximado de la composición de aminoácidos presentes en el frijol y se muestra el requerimiento diario de aminoácidos sugerido por la FAO para adultos.

Cuadro 5. Requerimiento diario de aminoácidos en adultos y contenido aproximado de aminoácidos en la especie *Phaseolus vulgaris* L.

Requerimiento (mg AA por cada g de proteína) en adultos	Aminoácidos (g por cada 100 g)	
45	Lisina	4.1-6.4
16	Histidina	3-5.2
63	Prolina	5.78-15.3
20	Cistina	3.8
20	Metionina	1.24-1.6
59	Leucina	3.9-5.06
29	Isoleucina	5-6
59	Fenilalanina	4.2-4.5
23	Treonina	1.06-1.3
8	Triptófano	3.4-5.6
38	Valina	3.4-5.6

FAO, 2001; Aremu *et al.*, 2010; Ezeagu *et al.*, 2010; Seidu *et al.*, 2015.

De acuerdo al contenido de aminoácidos presentes en el frijol, este grano cumple con los requerimientos diarios de aminoácidos propuestos por la FAO, cabe mencionar que el frijol es rico en lisina en comparación del maíz sin embargo el maíz es rico en metionina y cisteína y el frijol es deficiente en estos, el aporte de estos aminoácidos se puede complementar combinando el maíz y frijol, utilizando el sistema agrícola tradicional milpa o en platillos y productos donde se combinen estos dos productos (FAO, 2001; Estrada *et al.*, 2007).

2.7.2 Fibra dietética

La fibra dietética es el remanente de la parte comestible de plantas y carbohidratos análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado humano con la fermentación completa o parcial en el intestino grueso. Incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias vegetales asociadas. La fibra dietética exhibe beneficios como laxante (aumento de volumen fecal y de ablandamiento; aumento de la frecuencia, y/o regularidad), la atenuación de colesterol en sangre y/o atenuación de glucosa en sangre (AACC, 2001).

La fibra dietética en la dieta humana se ha demostrado que tiene importantes beneficios para la salud e implicaciones para la prevención de enfermedades crónicas (Kleintop *et al.*, 2013). De acuerdo con algunas características físico-químicas de solubilidad y de extracción (en soluciones de enzimas con pH controlado) la fibra dietética puede clasificarse adicionalmente en fracciones solubles o insolubles, la fibra insoluble (FI) es la forma predominante en el frijol común, aunque los métodos de procesamiento pueden alterar las cantidades y la proporción de las fracciones insolubles y solubles (Ramírez-Jiménez *et al.*, 2015).

La fracción insoluble ejerce una acción mecánica mediante el aumento de volumen de las heces en el tracto gastrointestinal, reduciendo el tiempo de tránsito y la mejora de laxante, lo que resulta en menos absorción de lípidos de la dieta en el intestino. Por otro lado, la fibra soluble (FS) ejerce un efecto fisiológico. Esta fracción reduce las

lipoproteínas totales y de baja densidad (LDL), los niveles de colesterol, así como resistencia a la insulina. La fibra soluble es altamente viscosa y fácilmente fermentable en el intestino grueso, estas dos características son la contribución más importante a la respuesta hipolipemiante (Ramírez-Jiménez *et al.*, 2015).

Además, la fibra soluble tiene la capacidad de unirse a los ácidos biliares, lo que lleva a la reducción de la absorción de colesterol de la dieta por los enterocitos y mayor producción de colesterol biliar (Ramírez-Jiménez *et al.*, 2015).

2.7.3 Vitaminas y minerales

Las vitaminas y minerales se denominan micronutrientes. El cuerpo humano las necesita en cantidades menores que los macronutrientes, pero son esenciales para una buena nutrición. Las vitaminas son nutrientes esenciales para los procesos básicos de la vida, como la conversión de los alimentos en energía, el crecimiento y la reparación de los tejidos y la defensa contra enfermedades, permitiendo el mejor funcionamiento del organismo. Se clasifican en liposolubles e hidrosolubles, siendo estas últimas las que se encuentran presentes en el frijol (FAO, 2001).

De acuerdo a Ruiz-Ruiz *et al.* (2012) el frijol es una gran fuente de macronutrientes y vitaminas como lo son tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y ácido fólico. Los minerales también cumplen funciones importantes en la construcción de tejidos, en el Cuadro 6, se muestra un análisis del contenido aproximado de minerales que se encuentran en el frijol.

Cuadro 6. Contenido de minerales en el frijol

Minerales (mg/100 g)	
Fe	8.26
Zn	3.18-5.6
Mn	0.11-1.35
Cu	1.10
Ca	16.4-257.2
Mg	21.5-111.5
P	89.3-675.3

Fuente: Ezeagu *et al.*, 2010; Prolla *et al.*, 2010; Seidu *et al.*, 2015; Espinoza-García *et al.*, 2016.

2.7.4 Propiedades no nutricionales

Por otra parte, es importante mencionar que las semillas de frijol son también ricas en componentes no nutricionales, tales como inhibidores de proteasas, lectinas, antivitaminas, saponinas, taninos y ácido fítico (Romano *et al.*, 2015). Los inhibidores de tripsina son considerados comúnmente como inhibidores proteolíticos y pueden provocar retardo en el crecimiento e hipertrofia pancreática (Ulloa *et al.*, 2011). Respecto a los taninos, además de disminuir la digestibilidad de proteínas, limitan la biodisponibilidad de minerales como el hierro y zinc, mientras que el ácido fítico también afecta la asimilación del zinc (Ulloa *et al.*, 2011).

Por otra parte, las lectinas son proteínas que inducen el crecimiento del páncreas en ratas y producen ulceración y necrosis en el intestino. Otra familia de componentes que se consideran indeseables en el frijol son ciertos oligosacáridos como la rafinosa, estaquiosa y verbascosa, los cuales no son hidrolizados en la primera etapa de la digestión y terminan fermentados en ácidos grasos de cadena corta y gas en el colon, lo que provoca problemas de flatulencia (Ulloa *et al.*, 2011).

2.8 Actividad antioxidante

El estrés oxidativo conduce a la modificación de macromoléculas extracelulares de lípidos en las membranas celulares, de las proteínas en los tejidos o enzimas y el ADN. Las especies reactivas de oxígeno por daño inducido incluyen la peroxidación de lípidos y la interrupción de proteínas. Resultados en la mutagénesis espontánea del ADN está implicada en el desarrollo de enfermedades crónica degenerativas como el cáncer. Por lo tanto, la suplementación de antioxidantes en la dieta diaria es necesaria para disminuir los efectos perjudiciales de los procesos oxidativos en los seres vivos (Nordberg y Arner, 2001).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de reacciones de oxidación. Pueden clasificarse en naturales o sintéticos. El comportamiento de los compuestos fenólicos como antioxidante está relacionado con su capacidad de quelar iones metálicos (Hierro y cobre) y capturar radicales libres (Decker, 1995). Entre los polifenoles con una reconocida capacidad antioxidante sobresalen los flavonoides, los ácidos fenólicos, taninos, los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

La presencia de compuesto fenólicos es importante por su estructura química que encierra en posiciones clave un número variable de grupos hidroxilo reactivos, que permiten que el antioxidante reaccione y así estabilizar a los radicales libres (Figura 9) (Moreno-Jiménez *et al.*, 2014).

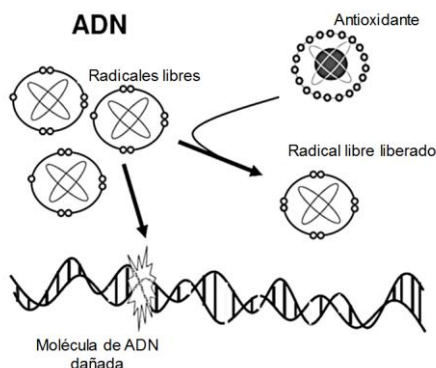


Figura 9. Mecanismo de acción de los antioxidantes. Fuente: Lacalle (2007).

2.9 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen uno de los más numerosos y ampliamente distribuidos grupos de sustancias en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras fenólicas, los polifenoles son productos del metabolismo secundario de las plantas, surgen biogénicamente a partir de dos principales vías de síntesis: la vía Shikimato y la vía del acetato. Este es un grupo muy amplio y complejo de sustancias vegetales, los polifenoles pueden ser moléculas simples, tales como ácidos fenólicos, o pueden ser compuestos altamente polimerizados, tales como los taninos (Bravo, 1998).

Se producen principalmente en forma conjugada, con uno o más residuos de azúcar unidas a los grupos hidroxilo, aunque también existen vínculos directos de la unidad de azúcar a un átomo de carbono aromático. Asociaciones con otros compuestos, tales como ácidos carboxílicos y orgánicos, aminas y lípidos y uniones con otros fenoles también son comunes. Los polifenoles se pueden dividir en al menos 10 clases diferentes en función de su estructura química básica. Los flavonoides, constituyen el grupo más importante, se pueden subdividir en 13 clases, con más de 5000 compuestos (Bravo, 1998).

Los compuestos fenólicos encontrados en el frijol común han sido reportados como antioxidantes, anticancerígenos, antimutagénicos y con efectos antiinflamatorios. Estos compuestos pueden servir como antioxidantes debido a su capacidad para inhibir la formación de especies radicales, inhibir enzimas relacionadas con la producción de especies reactivas de oxígeno y aniones superóxido, por quelación de iones metálicos tales como hierro y cobre, o como el hidrogeno que al ser donado logra estabilizar al radical libre (Akillioglu. y Karakaya, 2010; Mojica *et al.*, 2015).

2.9.1 Flavonoides

Los flavonoides constituyen el grupo más común de metabolitos secundarios de las plantas. Estos representan una gran familia de compuestos fenólicos de bajo peso molecular que se pueden dividir en diferentes clases estructurales de acuerdo con el nivel de oxidación y el patrón de sustitución del anillo C central. Debido a su contribución al color y sabor de frutas y hortalizas, frutos secos y semillas, los flavonoides forman parte de la dieta humana (Rocha-Guzmán *et al.*, 2007). Los flavonoides presentes en testa frijol negro y rosa son quercetina y kaempferol (Figura 10) (Oomah *et al.*, 2010).

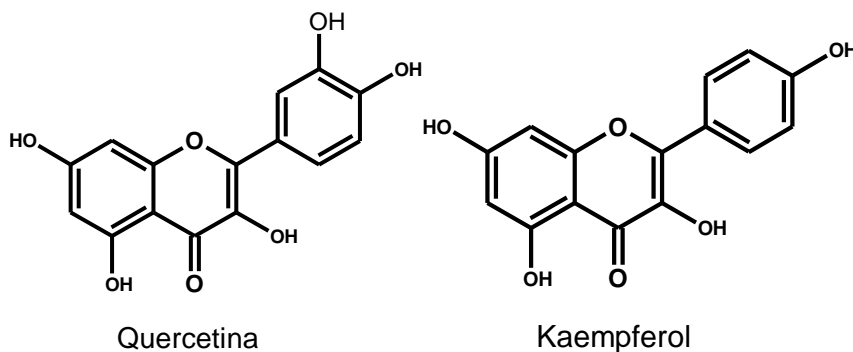


Figura 10. Estructuras de flavonoides presentes en el grano de frijol.

2.9.2 Antocianinas

Las antocianinas, que pertenecen al grupo de compuestos flavonoides, son pigmentos naturales que están ampliamente distribuidos en las plantas que se consumen en la dieta humana, incluyendo frutas y hortalizas. Cada día los seres humanos ingieren grandes cantidades de antocianinas de las plantas. En promedio la ingesta de antocianinas por el humano se ha estimado en 180 a 215 mg/día, que es mayor comparada con otros flavonoides (Clifford, 2000).

La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión. Las agliconas libres raramente existen en los alimentos, excepto posiblemente como componentes traza de las reacciones de degradación (Badui, 2006).

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. Los carbohidratos a los que comúnmente están unidos son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, ocasionalmente, la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa (Aguilera-Ortíz *et al.*, 2011).

Cuando las antocianinas carecen del azúcar se conocen como antocianidinas. El color de las antocianinas depende de diferentes factores: número de grupos hidroxilo y metoxilo en el anillo B de la antocianina, la presencia de ácidos aromáticos esterificados en el anillo principal y el pH de las vacuolas celulares en las que se almacenan estos pigmentos (Taiz y Zeiger, 2006). en la Figura 11 se presentan las estructuras de las antocianinas más abundante en la naturaleza.

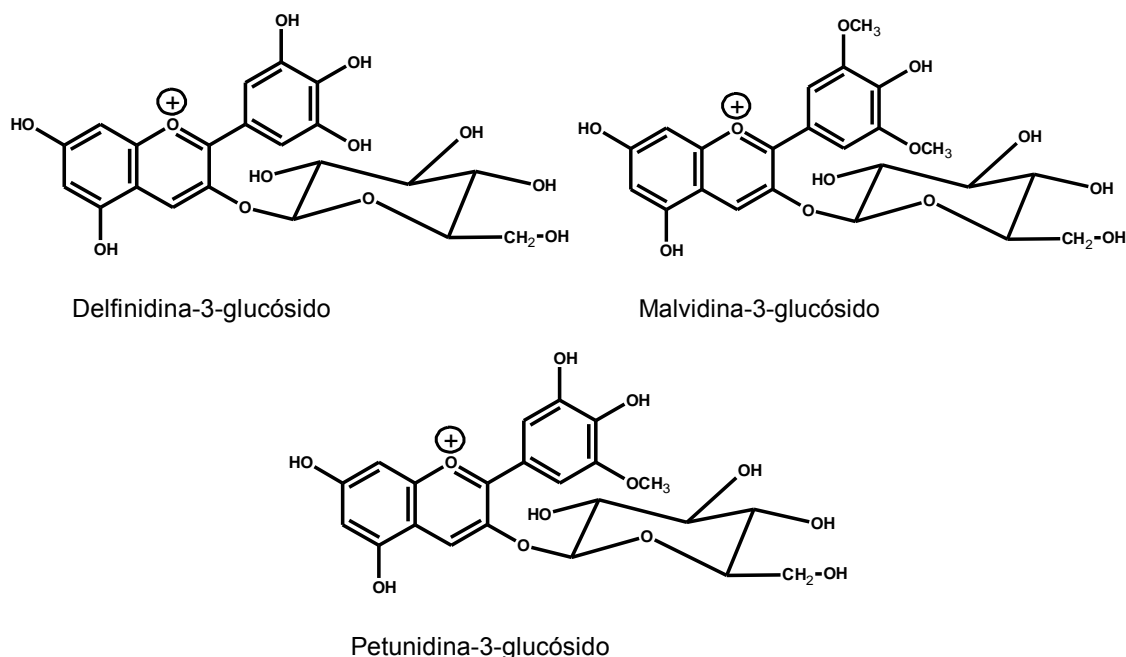


Figura 11. Estructuras de las antocianinas más abundantes en la naturaleza.

En particular, las antocianinas se asocian con una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena y la inhibición de R-

glucosidasa. Además, estos pigmentos pueden reducir el riesgo de enfermedades coronarias a través de la modulación de protección arterial, inhibición de la agregación de plaquetas, o la protección endotelial (Tae *et al.*, 2010).

2.10 Clasificación de compuestos fenólicos de acuerdo a la forma en que se encuentran en el tejido

Los ácidos fenólicos y flavonoides simples son los compuestos fenólicos más comunes y por lo general se encuentran disponibles de manera soluble e insolubles. En la naturaleza, los ácidos fenólicos se producen sobre todo en forma insoluble o unidos a otro compuesto, mientras que los flavonoides se encuentran como glucósidos unidos con una o múltiples moléculas de azúcar a través de un grupo OH (O-glucósidos) o a través de enlaces carbono-carbono (C-glucósidos) (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

2.10.1 Fenoles libres

La naturaleza fenólica de los polifenoles los hace relativamente hidrófilos, por lo tanto, los polifenoles libres, incluyendo agliconas, glucósidos y oligomeros son extraídos usando agua o disolventes orgánicos polares tales como metanol, etanol, acetonitrilo y acetona, también es importante el pH del disolvente de extracción. Para los polifenoles, la mayoría de las extracciones se llevan a cabo en condiciones acidas, ya que son más estables a pH bajo (Tsao, 2010). Los compuestos fenólicos libres más abundantes en el frijol son ácido gálico, catequina, ácido vanílico entre otros, su estructura se presenta en la Figura 12.

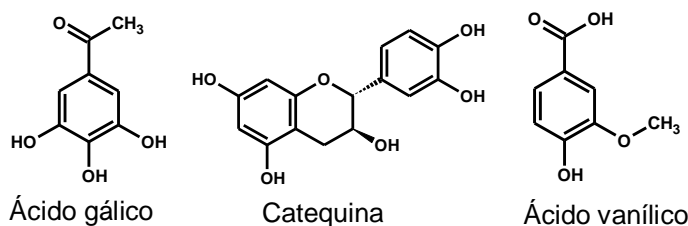


Figura 12. Estructura de fenoles libres más abundantes en el frijol.

2.10.2 Fenoles conjugados

Los compuestos fenólicos en las formas insolubles están unidos covalentemente a los componentes estructurales de la pared celular, tales como celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina y proteínas estructurales en forma de bastoncillos (Wong, 2006) como se muestra en la Figura 13. Estos fitoquímicos desempeñan funciones importantes en la pared celular como proporcionar tanto las barreras físicas y químicas, la protección contra la invasión de patógenos y la astringencia que evita el ataque de insectos y animales, también son antibacterianos, antifúngicos y funcionan como antioxidantes (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Los ácidos fenólicos, tales como ácido hidroxicinámico e hidroxibenzoico, forman enlaces éter con la lignina a través de sus grupos hidroxilo en el anillo y ésteres aromáticos unidos con los hidratos de carbono y proteínas estructurales a través de su grupo carboxílico (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

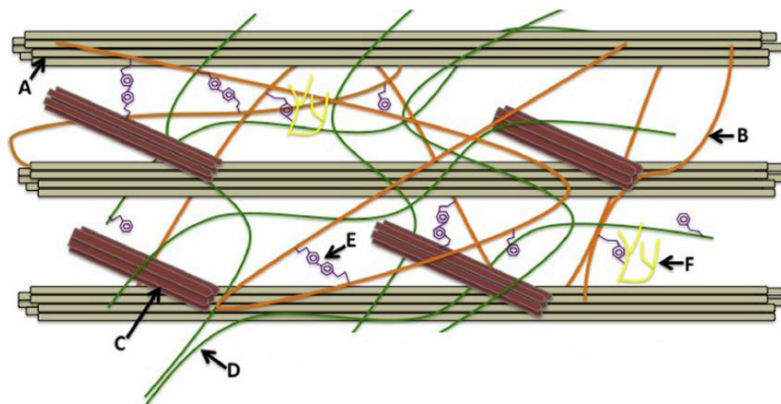


Figura 13. Representación de la estructura de la pared celular primaria del material vegetal y la reticulación entre los componentes estructurales y compuestos fenólicos. Celulosa (A), hemicelulosa (B), proteínas estructurales (C), pectina (D), ácidos fenólicos (E) y lignina (F). Fuente: Acosta-Estrada *et al.* (2014).

En los granos y semillas, principalmente en la cubierta del grano se encuentran los compuestos fenólicos en forma ligada. Estos ácidos fenólicos solo pueden ser liberados realizando una hidrólisis ácida, alcalina o por enzimas (Tsao, 2010).

Chen *et al.* (2015a) y Mojica *et al.* (2015) reportan la presencia de fenoles conjugados en grano de frijol como el ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, ácido sinápico y ácido *p*-hidroxibenzoico los cuales se muestran en la Figura 14

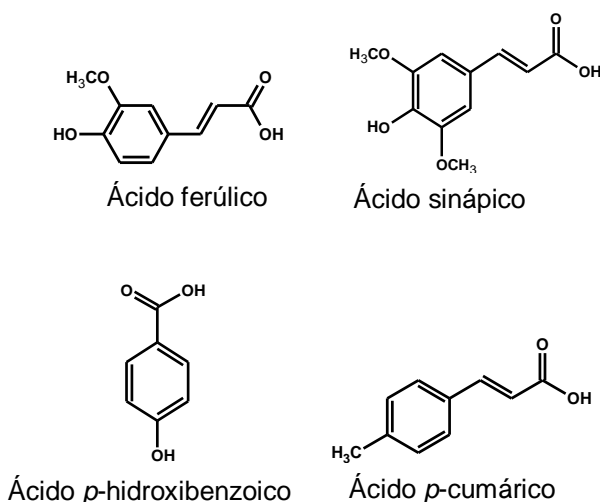


Figura 14. Estructura de fenoles conjugados encontrados en el frijol.

2.10.3 Fenoles enlazados a la pared celular

Los fenoles enlazados a la pared celular son compuestos insolubles (o no extraíbles) que permanecen en el residuo después de la extracción inicial. Estos compuestos fenólicos están esterificados a los polisacáridos de la pared celular, pero también pueden estar unidos covalentemente a monómeros de lignina a través de un enlace éter (Chen *et al.*, 2015a). Para los polifenoles la mayoría de las extracciones se llevan a cabo bajo condiciones ácidas ya que son generalmente más estables en pH bajo y la condición ácida ayuda a los polifenoles para permanecer de una manera neutral, extraídos en disolventes orgánicos.

Esto se hace usando un ácido débil o bajas concentraciones de un ácido fuerte, concentraciones altas de un ácido puede causar hidrólisis de los glucósidos o acilglicéridos. Para la separación e identificación de estos compuestos se utiliza cromatografía líquida de alta resolución con un detector con arreglo de diodos o acoplado a masas (Tsao, 2010).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) se caracteriza por ser un alimento rico en carbohidratos, proteínas, lípidos y fibra, además de poseer compuestos fenólicos que tienen una actividad antioxidante, antimutagénica y antiinflamatoria, lo cual brinda beneficios a la salud del consumidor. Actualmente en México existe una amplia diversidad de poblaciones de frijol nativo que no se han caracterizado y de las cuales no se tiene información sobre el aporte de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, esto ayudará a los agricultores a definir aquellas poblaciones y conjunto de genes con un mayor potencial nutricional y nutracéutico.

Respecto a lo antes mencionado resulta importante generar información que permita conocer las características físicas y contenido de compuestos fenólicos con actividad antioxidante de poblaciones de frijol nativas del estado de Oaxaca, y así aprovechar estas semillas con las mejores características. Este conocimiento ayudará a informar a los consumidores con el fin de promover el mejoramiento, conservación y aumento en la producción de poblaciones nativas para aumentar la demanda local, regional y nacional.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar características físicas y el contenido de compuestos fenólicos con actividad antioxidante en testa y grano de 54 poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

4.2 Específicos

Evaluar las características físicas del grano de frijol de 54 poblaciones nativas de frijol.

Analizar los polifenoles totales, flavonoides, antocianinas y actividad antioxidante en poblaciones nativas de frijol.

Separar e identificar los compuestos fenólicos individuales (libres, conjugados y enlazados) presentes en los granos de frijol, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

5. HIPOTESIS

Es probable que el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante, varíe entre las diferentes poblaciones de frijol nativo cultivadas bajo las mismas condiciones.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diagrama general de trabajo

En la Figura 15 se presenta el diagrama general de trabajo.

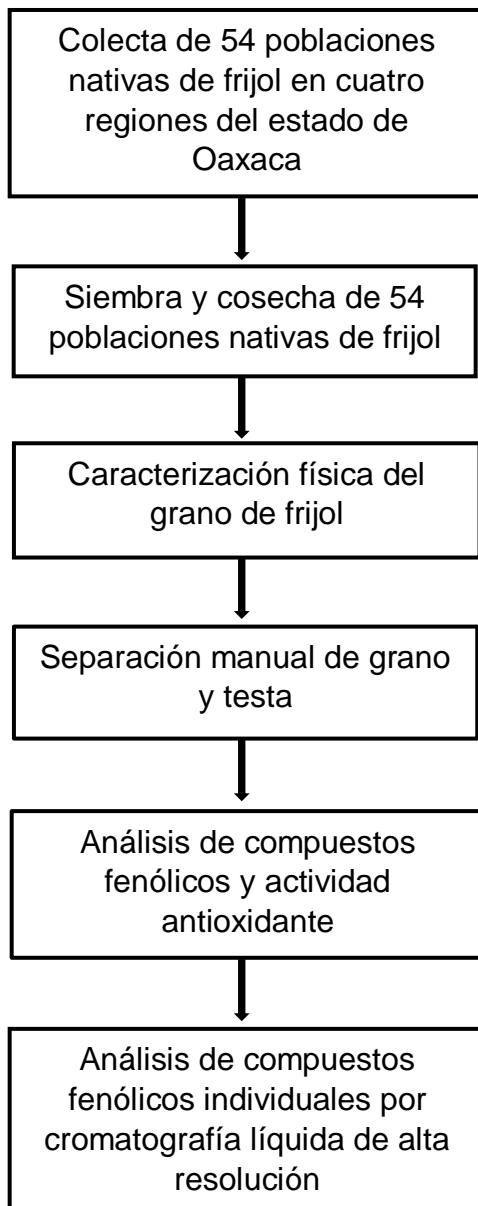


Figura 15. Esquema general de trabajo.

6.2 Material biológico

El Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Oaxaca colectó en cuatro regiones del estado de Oaxaca 54 poblaciones nativas de frijol, con amplia diversidad de colores y tamaños. Los granos de frijol fueron sembrados y cultivados en una huerta experimental ubicada en San Agustín Amatengo, Ejutla, Oaxaca, (latitud de 16°30'37"E, longitud 96°47'21"E, y altitud de 1361 msnm, consultar apéndice Cuadro A 1). Después de ser cosechados durante el periodo de Marzo-Abril del año 2014 los granos de frijol fueron almacenados en congelación y en ausencia de luz hasta su análisis.

Estas muestras fueron clasificadas de acuerdo a su región de origen como se presenta en el Cuadro 7, con el fin de encontrar si existe una relación de los parámetros morfométricos con la región de origen, además, se adquirieron cinco muestras comerciales las cuales fueron utilizadas como control: flor de mayo, pinto, negro black horse, peruano y negro tropical (región de Veracruz).

Cuadro 7. Clasificación de 54 poblaciones de frijol nativo de acuerdo a su región de origen.

Región	Cantidad
Sierra sur	8 poblaciones
<i>Sierra norte</i>	9 poblaciones
<i>Mixteca</i>	26 poblaciones
Valles centrales	11 poblaciones
Control	5 variedades comerciales

6.3 Caracterización física y química de 54 poblaciones de frijol nativo

6.3.1 Tamaño del grano de frijol

Las dimensiones longitud, ancho y grosor se midieron con un vernier digital en 20 granos de frijol por cada población nativa.

6.3.2 Peso en cien granos

Se obtuvo el peso de 100 granos de cada población nativa utilizando una balanza analítica (Ohaus AV1212, New Jersey, USA) se realizó esta medición por cuadruplicado.

6.3.3 Volumen de cien granos

Se tomaron 100 granos de frijol al azar y se colocaron en una probeta volumétrica de 100 mL, la cual contenía 50 mL de agua en su interior, se midió el volumen final, con el desplazamiento del agua al agregar 100 granos de frijol, este proceso se realizó por cuadruplicado de acuerdo al método descrito por Solano-Cervantes *et al.* (2009).

6.3.4 Peso específico

Este se calculó con los valores obtenidos del peso de 100 granos y el volumen de estos mismos por cuadruplicado. Para determinar el peso específico se utilizó la siguiente fórmula:

Relación de peso/volumen de 100 granos de frijol

El resultado se expresó en g/cm³.

6.3.5 Parámetros de color

El color de los granos de frijol se midió utilizando un espectrofotómetro (Konica Minolta Sensing Inc., mod CM-2600d, Aichi Pref., Japan) los parámetros que se registraron son los siguientes:

L*. Este parámetro mide la luminosidad de la muestra, cuyos valores van desde 0 a 100 que corresponden al negro y blanco, respectivamente.

a*. Parámetro cuyo eje horizontal positivo corresponde a un matiz de rojo a púrpura y en su eje negativo a un color verde.

b*. Parámetro cuyo eje vertical positivo corresponde al color amarillo y en el negativo al azul.

A partir de los parámetros a* y b* se calculó cromaticidad (C*) y ángulo de matiz (h°) de acuerdo a las fórmulas propuestas por McGuire (1992).

C*. Este parámetro representa la cromaticidad y describe la pureza del color observado, se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

h°. Ángulo de matiz. Este valor describe el tono y corresponde a un ángulo inferior a 360° donde 0, 90, 180, y 270° representan a los colores rojo-púrpura, amarillo, verde y azul respectivamente. Se calcula a través de la ecuación:

$$h^{\circ} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

6.3.6 Humedad

Para la determinación de humedad se tomó 1 gramo de muestra de testa, grano y harina de frijol utilizando una balanza electrónica para humedad (VELAB VE-50-5 Illinois E.U.A.).

6.4 Preparación de los extractos

Se utilizaron 60 gramos de frijol y se remojaron en 70 mL de agua destilada durante 12 horas. Se hizo una separación manual de grano y testa, los cuales se molieron por separado utilizando un molino (Nutribullet, NBR-12XX, LA, E.U.A.) se tomaron 3 gramos de muestra y se homogenizaron (DAIHAN-brand HG-15-A Gangwon, KOREA) con 25 mL de acetona acidificada al 70% (acetona/agua/ácido acético, 70:29.5:0.5 v/v/v), posteriormente los extractos fueron centrifugados a 4000 rpm durante 20 minutos a 10 °C (Hettich zentrifuge, Universal 32R, Tuttlingen, Alemania) se separó el sobrenadante y el residuo fue extraído una vez más bajo las mismas condiciones.

Los dos extractos del grano y testa se unieron para analizar el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas monoméricas y actividad antioxidante. Así mismo, al líquido obtenido del remojo también se le analizaron los parámetros antes mencionados.

6.4.1 Contenido total de polifenoles

Se midió de acuerdo al método descrito por Singleton y Rossi (1965). Se tomaron 400 μL del extracto y se mezclaron con 200 μL del reactivo de Folin Ciocalteau, se dejó reposar durante 5 a 8 minutos en ausencia de luz, se agregaron 2 mL de Na_2CO_3 al 7% y 1.4 mL de agua destilada, se agitó y después de una hora se leyó su absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro (JENWAY, 6305, Sttafordshire, Reino Unido). Para la cuantificación se utilizó una curva estándar de ácido gálico ($0.02\text{-}0.12 \text{ mg mL}^{-1}$) (Figura A4) y fue reportado como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra en base seca ($\text{mg EAG g}^{-1} \text{ bs}$).

6.4.2 Flavonoides

Se realizó por el método de Zhishen *et al.* (1999) que se basa en la capacidad de los flavonoides para formar complejos con iones metálicos que forman una solución amarilla en presencia de cloruro de aluminio. Se tomaron 250 μL del extracto y se agregaron 75 μL de nitrito de sodio al 5% y se agitaron en vortex, dejando reposar 5 minutos, posteriormente se agregaron 150 μL de cloruro de aluminio (AlCl_3) al 10%, después se agregaron 500 μL de hidróxido de sodio 1 M y por último el volumen se llevó a 3 mL aforando con 2025 μL de agua destilada. Para la cuantificación de flavonoides se midió la absorbancia a 510 nm y se utilizó una curva estándar de (+)-catequina (0.01 a 0.12 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) (Figura A5) y los valores se expresaron como mg equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca ($\text{mg ECatequina g}^{-1}$ bs).

6.4.3 Antocianinas monoméricas

Se utilizó el método de pH diferencial descrito por Wrolstad (1976). Se tomaron 600 μL del extracto (diluido 1:10) y se ajustó a un pH de 1 con un amortiguador de cloruro de potasio (0.025 M) y otro a pH de 4.5 con un amortiguador de acetato de sodio (0.4 M), esto es un extracto diluido en relación 1:5 con el respectivo amortiguador, posteriormente se midió la absorbancia en un intervalo de longitud de onda de 450 nm a 750 nm, con un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan) tomando como referencia para la cuantificación la absorbancia del punto máximo del espectro de absorción.

La concentración de antocianinas monoméricas (AM) se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación $AM = (A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000) / (\epsilon \cdot l)$ donde la absorbancia de la muestra A corresponde a $(A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda 510} - A_{\lambda 700})_{\text{pH } 4.5}$, PM= 449.2 es el peso molecular de cianidina-3-glucósido, $\epsilon = 26900$ es la absortividad molar de la cianidina-3-glucósido, FD= es el factor de dilución empleado y l= es la longitud de la celda (1 cm). Los resultados se exoresaron como mg de cianidina-3-glucosido por gramo de muestra en base seca (mg C3G g^{-1} bs).

6.4.4 Determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH

Se realizó por el método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995). Se tomaron 100 μL del extracto y se hizo reaccionar con 2.9 mL del reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) se dejaron reposar durante 30 minutos. Posteriormente se midió absorbancia en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800, Kyoto, Japan) a 517 nm utilizando como blanco metanol al 80% (v/v). Para la cuantificación de la actividad antioxidante se utilizó una curva estándar de Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (0.13 a 0.79 $\mu\text{mol Eq. Trolox mL}^{-1}$) (Figura A6). El resultado fue expresado como micro moles equivalentes de Trolox por cada gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs).

6.5 Separación e identificación de compuestos fenólicos libres, conjugados y enlazados por cromatografía líquida de alta resolución.

La obtención de los extractos de cada tipo de compuestos fenólicos, se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Mora-Rochin *et al.* (2010) (Consultar Figura A 7 del apéndice) a continuación se describe brevemente.

6.5.1 Extracción de fenoles libres

Para la obtención de los fenoles libres, se tomó 1 g de harina de frijol y se mezcló con 10 mL de acetona acidificada (70%) (acetona/ agua/ ácido acético) (v/v/v). Se centrifugó por 10 minutos a 5660 rpm, se separó el residuo del sobrenadante, mientras que el residuo se utilizó para la extracción de fenoles enlazados. Posteriormente el sobrenadante se evaporó a un volumen de 2 a 3 mL a 45 °C (Speed Vac Concentrator SPD2010-220, Asheville, NC, USA) el extracto se almacenó a -80 °C hasta su análisis.

6.5.2 Extracción de fenoles enlazados

Al residuo de la primera extracción se le agregaron 10 mL de hidróxido de sodio 2 M y se colocó en un baño de agua a 95 °C durante 30 minutos con eliminación previa de O₂ utilizando N₂. Después de la hidrólisis se agitó el extracto en vortex durante una hora a temperatura ambiente, posteriormente el extracto se acidificó a un pH 2 utilizando 2 mL de ácido clorhídrico y se separó con hexano (10 mL) para eliminar lípidos. La solución final se extrajo cinco veces con 10 mL de acetato de etilo para cada extracción. Se reunieron las fracciones de acetato de etilo y se evaporaron a sequedad bajo vacío a 35 °C durante 4 horas (Speed Vac Concentrator SPD2010-220, Asheville, NC, USA). El residuo se reconstituyó con 2 mL de metanol al 50 % y se almacenó a -80 °C hasta su análisis.

6.5.3 Extracción de fenoles conjugados

Del sobrenadante evaporado del extracto de fenoles libres se tomaron 5 mL para obtener el extracto de fenoles conjugados el cual se hidrolizó con 2 mL de hidróxido de sodio 2 M durante una hora a temperatura ambiente. Posteriormente la mezcla se acidificó a un pH < 2, utilizando ácido clorhídrico 2 M y se extrajo con hexano para eliminar lípidos. Finalmente se extrajo cinco veces la solución utilizando 2 mL de acetato de etilo para cada extracción. Las fracciones de acetato de etilo se combinaron y se evaporaron a sequedad bajo vacío a 35 °C durante 2 horas (Speed Vac Concentrator SPD2010-220, USA). Al residuo obtenido se le agregaron 2 mL de acetonitrilo al 20 % para reconstituir el extracto y se almacenó a -80 °C hasta su análisis.

6.5.4 Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La separación de compuestos fenólicos libres, conjugados y unidos se realizó utilizando el método reportado por Somporn *et al.* (2011) con algunas modificaciones. Se utilizó un sistema de HPLC Agilent series 1200 (USA) con un detector con arreglo de diodos. Las separaciones cromatográficas se realizaron a través de una columna

Poroshell 120 EC C18 (4.6 x 250 mm 4 μ m) (Agilent, USA) la temperatura de la columna se llevó a 25 °C, se utilizó una fase móvil A: ácido acético 0.2%, y la fase móvil B: metanol 100 %, se realizaron lecturas por duplicado a una longitud de onda a 280 nm y 320 nm durante 50 minutos.

Se inyectó una serie de estándares reportados en la literatura de compuestos fenólicos presentes en frijol, para realizar una curva estándar (Figura A 8) para identificar y cuantificar a los ácidos fenólicos presentes en 10 poblaciones de frijol nativo que representan la variabilidad de colores de las 54 poblaciones de frijol nativo.

Se utilizaron los siguientes compuestos fenólicos en las concentraciones descritas a continuación: catequina (diluciones 0.031-0.500 mg/mL $r^2=0.89$), ácido clorogénico (diluciones de 0.156-1.25 mg/mL $r^2=0.97$), ácido *p*-cumárico (diluciones de 0.156-1.25 mg/mL $r^2=0.99$), ácido ferúlico (dilución 0.031-0.500 mg/mL $r^2=0.99$), quercetina (diluciones de 0.31-0.500 mg/mL $r^2=0.99$), ácido vanílico (diluciones de 0.031-0.500 mg/mL $r^2=0.93$). Para la identificación de compuestos fenólicos se utilizó el tiempo de retención del estándar inyectado y su respectivo espectro (Figura A 12-A 19).

6.6 Análisis estadístico

Se hizo un análisis de varianza mediante un modelo lineal de bloques al azar por origen de la muestra de frijol y con anidamiento de muestras dentro de regiones con el fin de evaluar diferencias entre regiones de origen y diferencias entre muestras dentro de cada región. Es oportuno mencionar que las variedades comerciales se consideraron como grupo control. Se hicieron comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Después, a los promedios estandarizados por población se aplicó un análisis de componentes principales (ACP), con base en la matriz de correlaciones y posteriormente se hizo un análisis discriminativo canónico para los compuestos fenólicos identificados por HPLC. Todos los análisis estadísticos se hicieron en el paquete estadístico SAS® (2002).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Caracterización física

En el análisis de varianza las características morfométricas y parámetros de color de los granos de frijol mostraron diferencias significativas respecto a la región de origen donde fueron cosechadas, así como también las poblaciones dentro de cada región de origen mostraron contraste (Cuadro 8). En las características morfométricas se registró un coeficiente de variación menor a 10.9 y en los parámetros de color un coeficiente de variación menor a 22.4.

Cuadro 8. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los grupos de origen y por región de las poblaciones para las características físicas y características morfométricas del frijol nativo.

Características morfométricas de la semilla							
Fuentes de variación	GL ¹	Descripción de la semilla			Densidad de la semilla		Peso específico
		Largo	Ancho	Grosor	Peso (g)	Volumen (cm ³)	
Repetición	3	2.16 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.04 ^{ns}	1.14 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.002 ^{ns}
Región	8	22.04 ^{**}	15.93 ^{**}	13.59 ^{**}	711.46 ^{**}	430.62 ^{**}	0.023 ^{**}
Pob (región)	51	7.96 ^{**}	5.71 ^{**}	3.25 ^{**}	375.11 ^{**}	295.19 ^{**}	0.012 ^{**}
Error	173	1.51	0.07	0.10	0.79	0.96	0.002
C.V (%)		10.9	4.0	6.0	2.8	3.6	4.27
Parámetros de color							
Fuentes de variación	GL	L*		C*		h°	
Repetición	3	112.7 ^{**}		0.9 ^{ns}		179.4 ^{ns}	
Región	8	390.3 ^{**}		3.45 ^{**}		1672.7 ^{**}	
Pob (región)	51	247.6 ^{**}		1.83 ^{**}		1146.9 ^{**}	
Error	173	22.3		0.39		81.9	
C.V (%)		8.8		22.40		15	

¹GL= grados de libertad; L*= luminosidad; C*= cromaticidad; h°= ángulo de matiz;

C.V =coeficiente de variación. ns= no significativo; * = P<0.05, ** = P<0.01.

El Cuadro 9 se muestra la comparación de los valores promedio entre las regiones de origen y las variedades comerciales utilizadas como control para las características morfométricas y los parámetros de color. En relación al largo del frijol, las regiones Mixteca y Sierra Norte mostraron los valores mayores (11.8 mm y 11.7 mm, respectivamente) seguido de las regiones Sierra Sur y Valles Centrales. Las variedades comerciales utilizadas como control registraron menor valor que las poblaciones nativas por región de origen. Solo la muestra comercial peruano se encontró dentro del intervalo de las regiones (11.0-11.8 mm).

Cuadro 9. Comparación de medias entre regiones de origen vs variedades comerciales para las características morfométricas y parámetros de color.

Características	Región				Control				
	Mixteca	Snorte	Ssur	Vcentral	Negro tropical	Peruano	Pinto	Flor de Mayo	N. Black horse
Largo (mm)	11.8 ^a	11.7 ^a	11.1 ^c	11.0 ^c	7.9 ^e	11.4 ^b	9.6 ^d	9.6 ^d	6.9 ^f
Ancho (mm)	7.1 ^b	7.6 ^a	6.6 ^c	6.8 ^{bc}	4.2 ^g	5.8 ^d	4.7 ^f	4.9 ^e	4.2 ^g
Grosor (mm)	5.4 ^b	5.7 ^a	4.8 ^d	5.0 ^c	2.8 ^{fg}	4.9 ^{cd}	2.8 ^{fg}	3.2 ^e	2.7 ^g
P 100 gr	33.5 ^c	37.9 ^b	28.7 ^e	26.1 ^f	20.0 ^g	50.2 ^a	32.3 ^{cd}	30.8 ^d	20.6 ^g
V 100 gr (cm ³)	28.0 ^c	31.7 ^b	23.8 ^e	21.2 ^f	19.2 ^g	38.0 ^a	26.5 ^{cd}	26.2 ^d	16.5 ^h
P. E. (g/cm ³)	1.20 ^b	1.20 ^b	1.21 ^b	1.20 ^b	1.04 ^c	1.32 ^a	1.22 ^b	1.17 ^b	1.25 ^{ab}
Color en testa									
L*	54.2 ^e	50.3 ^f	57.1 ^d	50 ^f	45.5 ^h	64.1 ^b	62.8 ^c	65.3 ^a	46.4 ^g
C*	2.95 ^c	2.48 ^{gh}	2.55 ^{fg}	2.75 ^{de}	2.3 ^h	4.52 ^a	3.22 ^b	2.62 ^{ef}	1.78 ⁱ
h°	58.8 ^e	61.1 ^d	71.0 ^b	50.8 ^g	86.2 ^a	86.2 ^a	64.2 ^c	46.3 ^h	55.3 ^f

Snorte= sierra norte, Ssur= sierra sur, Vcentral= valles centrales; L*= luminosidad; C*= cromaticidad, h°= ángulo de matiz; P 100 gr= Peso de 100 granos; V 100 gr= Volumen de 100 granos; P. E= Peso específico. Valores con diferente letra son significativamente diferentes entre filas (P<0.05).

En el ancho del frijol se encontraron diferencias entre las regiones de origen, siendo la región de la Sierra norte donde se obtuvo el mayor promedio (7.6 mm) seguido de la región Mixteca y Valles Centrales. Las muestras comerciales presentaron menor ancho y se encontraron en un intervalo de 4.2-5.8 mm. Para el grosor del grano de frijol, la región de la Sierra Norte registró el mayor valor (5.7 mm) seguido de la región Mixteca y Valles Centrales. Las variedades comerciales presentaron menor grosor que las poblaciones nativas (2.7-4.9 mm).

En peso de 100 granos se encontraron diferencias entre las regiones de origen, siendo en la región de la Sierra Norte donde se localizan poblaciones de mayor peso (37.9 g) al contrario de las poblaciones de la región de los Valles Centrales que mostraron menor peso (26.1 g); respecto a las variedades comerciales utilizadas como control, el frijol peruano registró mayor peso que las poblaciones nativas (50.2 g).

En volumen de 100 granos la región de la Sierra Norte presentó el mayor promedio (31.7 cm³) respecto a las regiones de la Sierra Sur y los Valles Centrales. Las variedades comerciales se encontraron en este parámetro en un intervalo de 16.5-38.0 cm³, siendo el frijol peruano el que mostró mayor volumen comparado con las poblaciones nativas. En peso específico no se encontraron diferencias entre las regiones de origen obteniendo un intervalo de 1.20-1.21 g/cm³, respecto a las muestras control el frijol peruano registró el mayor peso específico (1.32 g/cm³) comparado con las poblaciones nativas.

En los parámetros de color (Cuadro 9) se encontraron diferencias entre las regiones de origen. En el parámetro de luminosidad (L*) se registró un intervalo de 50-57.1, en la región de la Sierra Sur se encontraron poblaciones de color más cercanas al blanco. En las variedades comerciales, el frijol flor de mayo registró el mayor valor en luminosidad (65.3). En cromaticidad se presentaron diferencias entre las regiones de origen, siendo en la región Mixteca donde se encontró el mayor valor (2.95) respecto a las demás regiones de origen. Las variedades comerciales peruano y pinto presentaron valores más altos que las poblaciones nativas por región.

El ángulo de matiz (h°) fue mayor en la región de la Sierra Sur (71.0), encontrando diferencias entre las regiones de origen, el menor valor en este parámetro se registró en la región de los Valles Centrales (50.8), respecto a las muestras control el frijol peruano y negro tropical mostraron diferencias entre las demás muestras presentando valores más altos.

En el Cuadro 10 se muestra el promedio de los valores obtenidos para las características morfométricas de las poblaciones nativas. La longitud del grano estuvo en un intervalo de 9.23-14.93 mm, estos valores son similares a los descritos por Espinosa-Pérez *et al.* (2015) quienes clasificaron 75 poblaciones de frijol nativo del centro y sur del país de acuerdo a su diversidad en dimensiones reportando un intervalo de 9.7-11.7 mm. En el ancho se registró un intervalo de 5.10-10.71 mm esto es similar a lo reportado por Gallegos-Infante *et al.* (2013) con un valor de 7.1-9.1 mm para variedades comerciales de frijol pinto, negro y rosado.

En el grosor de frijol (Cuadro 10) se obtuvo un intervalo de 2.55-6.72 mm más amplio a lo reportado por Oomah *et al.* (2010) con un valor de 4.2-5.5 mm para variedades comerciales pinto y frijol negro. En peso de 100 granos se obtuvo el mayor valor en la población 22 que corresponde a la región Mixteca. De manera general se obtuvo un peso entre 18.1-69.9 g, estos valores fueron superior a lo reportado por López-Alcocer *et al.* (2016) quienes evaluaron 30 poblaciones de frijol nativo cultivado en el estado de Jalisco, obteniendo un intervalo de 4.71-21.9 g. Por otro lado, Ramírez-Pérez *et al.* (2012) reportaron un peso de 100 granos entre 26.3-45.5 g para muestras cultivadas en el estado de Puebla.

En volumen de 100 granos el mayor valor lo presentó la población 22 (58.25 cm^3) que corresponde a la región Mixteca; de manera general se obtuvo un intervalo de 14.0-58.25 cm^3 esto es inferior a lo reportado por Espinosa-Pérez *et al.* (2015) con un intervalo de 16.9 cm^3 a 66.4 cm^3 para muestras de frijol nativo recolectadas en el centro y sur del país. En peso específico la población 57 de la región de los Valles Centrales presentó el mayor valor con 1.33 g/cm^3 , de manera general en este parámetro se obtuvo un intervalo

de 1.10-1.33 g/cm³, estos valores son mayores que lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) en frijol nativo cultivado en Oaxaca con un valor de 0.30-0.48 g/cm³.

De acuerdo a su diversidad de tamaño y formas de los granos de frijol, estas poblaciones nativas presentan características similares a la raza Mesoamericana, Jalisco y Andino, previamente descritas por Singh *et al.* (1989).

Además, para el peso de 100 granos se utilizó la escala propuesta por Singh *et al.* (1991) para clasificar al frijol por tamaños de acuerdo a su peso, siendo pequeños aquellos con un peso de 25 g, medianos de 35 g a 40 g y grandes mayores a 40 g con base en esta escala las 54 poblaciones de frijol nativo se ubicaron en estos tres tamaños. Los frijoles grandes oscilaron entre un peso de 40.91-65.5 g, los medianos entre 35.6-39.9 g y los pequeños en un intervalo de 18.1-34.9 g. Estos valores son menores a lo reportado por Solano-Cervantes *et al.* (2009) con un intervalo de 22.4 g a 78.1 g, para frijoles originarios de Guerrero.

Cuadro 10. Promedio de las características morfométricas de 54 poblaciones de frijol nativo y cuatro variedades comerciales.

Población	Largo mm	Ancho mm	Grosor mm	P 100 gr	V 100 gr (cm ³)	P. E (g/cm ³)
Pob-02	11.07	7.05	4.52	22.15	18.75	1.18
Pob-03	10.32	7.01	5.87	25.35	22.75	1.11
Pob-04	12.10	6.91	4.79	25.26	21.50	1.17
Pob-05	13.26	7.29	4.61	31.73	26.50	1.20
Pob-06	12.75	7.53	4.54	31.69	26.75	1.19
Pob-08	10.33	6.77	5.58	25.51	21.75	1.17
Pob-09	9.55	6.94	5.90	25.18	21.75	1.16
Pob-11	11.66	7.05	5.54	29.40	25.50	1.15
Pob-13	11.31	6.91	4.51	24.60	21.25	1.16
Pob-17	11.81	6.48	4.91	28.33	23.00	1.23
Pob-18	10.60	6.79	5.55	26.73	22.25	1.20
Pob-19	10.67	5.96	5.08	28.54	22.25	1.28
Pob-20	14.03	9.72	7.12	65.97	57.50	1.15
Pob-22	14.49	9.71	6.72	65.99	58.25	1.13
Pob-23	10.84	6.48	5.21	29.08	24.50	1.19
Pob-26	14.46	10.49	6.88	38.71	34.25	1.13
Pob-28	11.25	6.45	5.11	30.99	24.00	1.29

Continuación (Cuadro10)						
Pob-29	13.00	6.92	4.80	31.82	27.00	1.18
Pob-30	12.97	8.84	6.16	53.56	44.00	1.22
Pob-31	10.95	8.18	5.55	42.29	35.00	1.21
Pob-32	13.97	9.78	6.98	63.30	54.25	1.17
Pob-33	10.35	6.03	5.57	23.41	21.00	1.12
Pob-34	10.38	6.81	5.88	25.76	21.25	1.21
Pob-35	11.70	8.20	5.81	40.00	34.25	1.17
Pob-39	10.51	6.68	5.27	26.66	22.00	1.22
Pob-40	10.43	6.58	5.29	25.85	20.75	1.25
Pob-41	10.13	6.36	5.14	26.02	21.00	1.24
Pob-43	10.96	6.46	5.45	26.85	21.75	1.23
Pob-44	10.03	6.18	4.58	24.65	19.25	1.28
Pob-46	12.59	8.95	6.36	47.29	39.00	1.21
Pob-48	12.00	7.00	4.81	32.98	26.75	1.23
Pob-49	10.79	6.38	4.56	23.44	19.25	1.22
Pob-50	11.97	6.59	5.09	27.78	22.75	1.22
Pob-51	10.22	6.60	5.41	26.38	23.50	1.12
Pob-52	11.11	6.73	4.69	27.86	22.50	1.24
Pob-54	10.05	6.82	5.51	30.27	24.25	1.26
Pob-55	11.17	5.89	2.81	35.78	29.50	1.21
Pob-56	10.87	6.54	5.42	26.63	22.50	1.18
Pob-57	9.89	5.60	4.84	18.16	14.00	1.33
Pob-58	12.46	6.78	5.40	32.50	26.50	1.23
Pob-59	11.80	7.27	5.73	32.47	27.75	1.17
Pob-61	9.82	4.77	2.55	31.43	25.00	1.26
Pob-62	11.41	6.61	5.40	30.76	24.25	1.27
Pob-63	11.67	6.68	5.65	34.00	26.25	1.30
Pob-64	13.39	7.23	5.10	40.42	32.75	1.23
Pob-65	9.23	7.59	6.23	27.60	24.00	1.15
Pob-66	10.40	5.10	3.15	34.99	28.25	1.24
Pob-67	12.10	7.00	5.97	33.16	27.00	1.23
Pob-68	10.07	7.61	6.54	35.63	30.25	1.18
Pob-69	14.93	10.71	7.62	39.37	34.75	1.13
Pob-71	9.47	6.02	4.87	21.61	17.50	1.24
Pob-72	12.29	6.67	5.38	31.37	25.75	1.22
Pob-74	10.82	6.37	5.53	24.98	23.00	1.10
Pob-76	11.49	6.68	5.48	31.14	24.75	1.26
Intervalo	9.23-14.93	5.10-10.71	2.55-7.62	18.16-65.99	14-58.25	1.10-1.33

P. 100 gr= Peso de 100 granos; V 100 gr= Volumen de 100 granos; P. E.= Peso específico. Los valores son promedios de cuatro repeticiones.

7.2 Compuestos con actividad antioxidante en testa y grano

En el análisis de varianza los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante mostraron diferencias significativas respecto a la región de origen donde fueron cosechados, así como también las poblaciones dentro de cada región de origen mostraron contraste (Cuadro 11). En los parámetros evaluados en testa se registró un coeficiente de variación menor a 6.8 y en el grano menor a 3.7.

Cuadro 11. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los grupos de origen y por región de las poblaciones nativas para los compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa y grano.

Compuestos fenólicos y actividad antioxidante								
Fuentes de variación	GL ¹	Testa				Grano		
		PT	FT	AM	AA	PT	FT	AA
Repetición	3	3.16 ^{ns}	0.008 ^{ns}	0.02 ^{ns}	90.35 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.09 ^{ns}
Región	8	15659.48**	190.77**	23.64**	762046.0**	1.217**	0.015**	40.29**
Pob (región)	51	12676.71**	101.34**	10.97**	389683.2**	1.009**	0.024**	20.27**
Error	173	1.55	0.055	0.01	117.9	0.001	<0.001	0.03
C. V (%)		1.1	2.0	6.8	1.4	1.3	3.7	2.1

¹GL=grados de libertad, C. V= coeficiente de variación; ns= no significativo; *= P<0.05; **= P<0.01; PT= polifenoles totales; FT= flavonoides totales; AM= antocianinas monoméricas; AA= actividad antioxidante.

En la comparación de medias entre regiones de origen contra las muestras control para los compuestos fenólicos (Cuadro 12) se observó diferencia de acuerdo a la región de origen para todas las variables evaluadas en testa y grano de frijol.

7.2.1 Polifenoles totales en testa

En polifenoles totales (Cuadro 12) la región de la Sierra Norte presentó diferencias entre las demás regiones, mostrando el mayor valor con 132 mg EAG g⁻¹ bs, esto es menor a lo encontrando en la variedad comercial negro black horse (194.1 mg EAG g⁻¹

bs), el menor promedio dentro de las regiones se registró en los Valles Centrales (93.7 mg EAG g⁻¹ bs), sin embargo las poblaciones de esta región mostraron mayor concentración de estos compuestos que las variedades comerciales pinto y peruano (36.1 mg EAG g⁻¹ bs y 30.1 mg EAG g⁻¹ bs, respectivamente).

Cuadro 12. Comparación de medias entre regiones de origen vs muestras comerciales para compuestos fenólicos en testa y grano.

Parámetros	Región				Control				
	Mixteca	Snorte	Ssur	Vcentral	Negro tropical	Peruano	Pinto	Flor de Mayo	N. Black horse
Testa									
Polifenoles (mg EAG g ⁻¹ bs)	112.4 ^d	132.4 ^c	97.5 ^e	93.7 ^f	99.6 ^e	30.1 ^h	36.1 ^g	165.9 ^b	194.1 ^a
Flavonoides (mg ECat g ⁻¹ bs)	12.9 ^b	12.5 ^b	9.7 ^c	12.5 ^b	7.5 ^d	1.08 ^g	2.8 ^f	18.9 ^a	5.1 ^e
Antocianinas (mg C3G g ⁻¹ bs)	1.1 ^f	2.1 ^c	1.7 ^d	1.5 ^e	2.6 ^b	0.03 ^h	0.01 ⁱ	0.1 ^g	7.0 ^a
Actividad antioxidante (μmol Eq. Trolox g ⁻¹ bs)	734.5 ^c	1021.5 ^a	674.2 ^e	700.5 ^d	530.6 ^f	188.2 ^h	219.7 ^g	659.7 ^e	969.0 ^b
Grano									
Polifenoles (mg EAG g ⁻¹ bs)	2.45 ^e	2.57 ^d	2.51 ^e	2.8 ^a	2.63 ^c	1.59 ^g	1.7 ^f	2.7 ^b	2.6 ^{cd}
Flavonoides (mg ECat g ⁻¹ bs)	0.32 ^b	0.34 ^b	0.33 ^b	0.37 ^a	0.37 ^a	0.26 ^c	0.28 ^c	0.33 ^b	0.27 ^c
Actividad antioxidante (μmol Eq. Trolox g ⁻¹ bs)	8.5 ^c	9.33 ^b	9.02 ^b	10.2 ^a	9.1 ^b	3.89 ^f	5.1 ^e	4.9 ^e	6.7 ^d

Snorte= sierra norte, Ssur= sierra sur, Vcentral= valles centrales. Valores con diferente letra son significativamente diferentes entre filas (P<0.05).

Respecto al análisis de las poblaciones nativas el contenido de polifenoles en testa se registró en un intervalo de 1.33-248.97 mg EAG g⁻¹ bs (Cuadro 13) siendo la población 22 (frijol con una mezcla de color negro y morado) la cual mostró la mayor concentración de polifenoles totales con un valor de 248.97 mg EAG g⁻¹ bs, cuyo origen es de la región Mixteca; este valor es superior a lo reportado por Guajardo-Flores *et al.* (2013) con un

valor de 27 mg EAG/ g para frijol negro “San Luis” además Aquino-Bolaños *et al.* (2016) reportaron para frijol nativo cosechado en el estado de Oaxaca, un valor de 127 mg EAG g⁻¹ bs para frijol de color negro.

La menor concentración de polifenoles en testa se encontró en la población 67 (1.33 mg EAG g⁻¹ bs) el frijol es de color blanco y pertenece a la región de los Valles Centrales, este valor fue inferior a lo reportado por Luthria y Pastor-Corrales (2006) con un valor de 4.8 mg EAG/g para frijol blanco cultivado en EE.UU., estos autores concluyen que la menor concentración de compuestos fenólicos se encuentra en frijoles de color claro en comparación de frijol de color oscuro ya que en estos no hay presencia de compuestos fenólicos como las antocianinas encargadas de dar el color al frijol.

Cuadro 13. Concentración de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y parámetros de color en 54 poblaciones de frijol común.

Población	Testa				Grano			Color en testa		
	PT mg EAG g ⁻¹ bs	FT mg ECat g ⁻¹ bs	AM mg C3G g ⁻¹ bs	AA μmol Eq. Trolox g ⁻¹ bs	PT mg EAG g ⁻¹ bs	FT mg ECat g ⁻¹ bs	AA μmol Eq. Trolox g ⁻¹ bs	L*	C*	h°
Pob-02 ^b	1.9	0.2	0.5	69.3	2.2	0.4	12.8	72.3	9.4	85.4
Pob-03 ^r	104.7	16.0	0.31	955.1	3.8	0.4	16.2	46.7	9.6	45.4
Pob-04 ⁿ	137.3	14.8	3.33	1086.5	2.7	0.5	11.0	40.3	4.4	62.2
Pob-05 ^b	2.3	0.2	0.02	41.4	2.1	0.4	9.6	73.0	8.0	4.7
Pob-06 ⁿ	59.5	8.0	1.02	506.7	3.5	0.6	11.7	49.5	3.7	77.2
Pob-08 ⁿ	153.9	8.4	3.73	922.8	3.0	0.3	7.7	42.4	4.0	63.7
Pob-09 ^r	111.1	18.4	0.6	747.1	2.9	0.3	9.0	45.8	11.6	41.1
Pob-11 ^a	64.9	14.1	0.13	660.2	2.1	0.3	6.6	61.4	16.2	67.9
Pob-13 ⁿ	161.7	9.5	3.45	876.1	3.4	0.3	10.8	42.1	4.3	63.3
Pob-17 ^m	61.7	7.4	0.1	320.5	2.1	0.3	10.2	52.7	7.8	65.4
Pob-18 ⁿ	150.2	13.6	4.7	1030.9	2.7	0.5	9.4	42.5	4.2	65.4
Pob-19 ^r	111.5	15.3	0.17	788.5	2.6	0.4	9.0	52.7	10.0	30.7
Pob-20 ^m	220.0	15.1	0.7	1231.7	3.1	0.4	10.6	51.1	20.2	60.5
Pob-22 ^m	249.0	24.2	0.4	673.2	1.9	0.5	11.7	59.1	7.9	68.5
Pob-23 ^m	123.7	11.0	1.8	705.9	2.5	0.3	8.9	53.7	11.4	65.1
Pob-28 ^r	108.9	15.2	0.22	596.6	3.0	0.3	7.2	48.3	9.6	33.1
Pob-29 ⁿ	138.5	13.8	3.7	890.0	2.9	0.5	7.2	43.8	3.8	62.5
Pob-30 ⁿ	186.2	18.1	3.2	1064.9	2.9	0.3	7.0	47.1	6.1	63.8
Pob-31 ⁿ	226.8	9.6	2.2	1497.2	3.1	0.3	13.2	51.3	3.2	77.2
Pob-32 ^m	135.1	14.6	2.43	1019.5	1.6	0.2	7.8	53.0	7.9	68.6
Pob-33 ^m	96.7	14.0	1.7	771.6	2.2	0.3	9.1	49.8	11.2	43.1
Pob-34 ^m	70.9	10.1	0.3	941.1	2.1	0.2	8.9	62.1	7.0	51.9
Pob-35 ^m	199.0	14.1	1.3	1390.2	2.9	0.4	13.5	49.7	3.9	43.8
Pob-39 ^r	99.4	13.0	0.4	653.9	2.8	0.3	10.3	53.6	7.3	43.0
Pob-40 ^r	96.7	14.2	0.4	530.3	2.9	0.3	6.7	45.3	9.9	38.8
Pob-41 ⁿ	150.2	18.8	6.8	1113.2	2.6	0.3	9.2	45.8	5.1	55.1

Continuación (Cuadro 13)										
Pob-43 ^m	67.0	5.2	0.02	507.5	2.2	0.3	8.8	56.0	13.8	68.0
Pob-44 ⁿ	118.8	9.0	3.2	952.2	3.6	0.4	10.3	46.2	4.3	64.0
Pob-46 ⁿ	85.4	17.3	3.1	1180.8	2.2	0.3	7.4	44.2	4.9	68.0
Pob-48 ⁿ	136.0	19.5	3.0	1147.9	2.6	0.3	9.4	49.8	3.4	72.3
Pob-49 ⁿ	116.2	9.8	2.2	820.7	2.6	0.3	8.5	45.7	5.1	79.7
Pob-50 ^b	1.5	0.2	0.02	47.5	2.1	0.4	9.5	71.8	8.8	86.2
Pob-51 ^m	109.9	12.1	1.5	727.0	2.1	0.3	10.5	52.8	11.0	63.1
Pob-52 ⁿ	133.8	11.4	3.0	1059.1	3.1	0.3	8.7	45.3	4.0	77.3
Pob-54 ^r	136.8	15.4	0.4	594.3	2.6	0.3	3.8	55.0	7.9	32.1
Pob-55 ⁿ	141.8	11.9	3.3	937.2	2.8	0.3	8.7	47.5	4.8	80.9
Pob-56 ^m	118.4	7.3	2.1	811.4	2.5	0.2	8.8	62.0	6.7	70.3
Pob-57 ^a	48.3	12.1	0.05	502.6	2.4	0.3	10.4	56.2	18.8	64.8
Pob-58 ^r	47.9	13.2	0.14	650.5	2.8	0.3	8.5	48.6	11.2	38.2
Pob-59 ^a	63.8	12.0	0.04	676.7	1.8	0.2	8.8	57.8	23.3	70.3
Pob-61 ⁿ	137.2	11.0	3.7	763.7	2.5	0.3	6.3	45.6	5.1	83.3
Pob-62 ^r	116.4	15.5	0.2	706.9	2.5	0.3	6.2	55.4	10.2	38.7
Pob-63 ^r	53.7	16.1	0.1	701.8	2.5	0.3	6.5	50.8	10.8	38.7
Pob-64 ^r	74.2	15.1	0.3	671.8	3.2	0.4	7.1	52.9	8.3	29.5
Pob-65 ^a	68.6	14.8	0.01	576.4	1.9	0.2	9.0	59.4	16.9	71.0
Pob-66 ⁿ	144.6	12.1	6.1	832.4	3.0	0.3	10.4	53.5	3.4	75.2
Pob-67 ^b	1.3	0.2	0.0	14.3	1.8	0.4	7.5	71.1	8.4	84.9
Pob-68 ^p	83.5	7.3	0.8	932.3	1.8	0.3	9.2	56.0	7.2	79.6
Pob-69 ^m	158.5	14.9	1.0	990.2	2.3	0.5	8.8	63.8	4.9	53.4
Pob-71 ^m	116.6	7.9	0.2	789.5	1.7	0.3	6.5	60.0	5.5	51.2
Pob-72 ^m	70.2	15.3	0.1	654.7	2.1	0.3	7.2	57.4	12.9	53.1
Pob-74 ^m	65.6	9.8	0.0	224.2	1.8	0.2	8.4	66.0	10.9	70.6
Pob-76 ^r	97.3	18.0	0.2	713.9	2.9	0.3	5.1	46.8	9.9	36.2
DHS-Tukey	3.65	0.69	0.30	31.86	0.10	0.04	0.53	13.85	1.83	26.5

PT= Polifenoles totales; AA= actividad antioxidante; FT= flavonoides totales; AM= antocianinas monoméricas; L*= luminosidad; C*= cromaticidad; h°= ángulo de matiz. Clasificación de grano por color visual: ^b=blanco, ⁿ= negro, ^r= rojo, ^a= amarillo, ^{rs}= rosado, ^p= pinto, ^m=mezcla (combinaciones de rojo, blanco, negro, morado, pinto, bayo, amarillo, rosa, café).

7.2.2 Flavonoides en testa

En flavonoides en testa de acuerdo a la comparación de medias (Cuadro 12) no se encontraron diferencias en concentración de estos compuestos entre la región Mixteca, Sierra Norte y los Valles Centrales obteniendo un intervalo de 12.5-12.9 mg ECat g⁻¹ bs; sin embargo estas concentraciones son menores comparadas con la variedad comercial flor de mayo (18.9 mg ECat g⁻¹ bs) además las poblaciones de la región Sierra Sur mostraron mayor concentración (9.7 mg ECat g⁻¹ bs) que las muestras control, negro tropical, peruano, pinto y negro black horse (1.0-7.5 mg ECat g⁻¹ bs).

El contenido de flavonoides en testa se registró en un intervalo de 0.15-24.23 mg ECat g⁻¹ bs (Cuadro 13) la población 22 (frijol con una mezcla de color negro y morado) mostró la mayor cantidad de estos compuestos (24.23 mg ECat g⁻¹ bs) esta población se encuentra en la región Mixteca y este valor es mayor a lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) con una concentración de 11 mg ECat g⁻¹ bs para frijol negro originario del estado de Oaxaca. La menor concentración se encontró en la población 67 (frijol de color blanco) con un valor de 0.15 mg ECat g⁻¹ bs, esto es inferior a lo reportado por Boateng *et al.* (2008) para frijol cultivado en EE.UU. (0.61 mg ECat/g).

7.2.3 Antocianinas monoméricas en testa

En antocianinas monoméricas la región de la Sierra Norte mostró diferencias respecto a las demás regiones con un valor de 2.1 mg C3G g⁻¹ bs (Cuadro 12) y respecto a las variedades comerciales la muestra control negro black horse presentó la mayor concentración con 7.0 mg C3G g⁻¹ bs. La región Mixteca, Sierra Sur y Valles Centrales registraron mayor concentración de estos compuestos (1.1-1.7 mg C3G g⁻¹ bs) que las muestras control peruano, pinto y flor de mayo (0.1-0.03 mg C3G g⁻¹ bs).

El contenido de antocianinas monoméricas en testa se registró en un intervalo de 0.01-6.76 mg C3G g⁻¹ bs (Cuadro 13) la mayor concentración de estos compuestos se encontró en la población 41 (frijol de color negro) con un valor de 6.76 mg C3G g⁻¹ bs y pertenece a la región de los Valles Centrales, este valor es mayor a lo reportado por Dzomba *et al.* (2013) para frijol negro originario de Zimbabwe con una concentración de 0.43 mg C3G/g. En el grano de frijol no se cuantificaron antocianinas ya que estas se encuentran presentes en la testa del frijol.

Akond *et al.* (2011) han descrito que el contenido de antocianinas es mayor en frijol de color, negro, rojo y morado, que en frijol de color amarillo y blanco, ya que estos compuestos son pigmentos solubles responsables de la pigmentación rojo/azul de materiales vegetales.

De manera general también se cuantificaron en las poblaciones nativas, antocianinas monoméricas en frijol de color morado, rojo y rosado. Respecto a las variedades comerciales el frijol negro black horse registró la mayor concentración de antocianinas monoméricas (7.1 mg C3G g⁻¹ bs) esta concentración puede estar asociada a que es una variedad de frijol mejorada (Chen *et al.*, 2015a; Mojica *et al.*, 2015). En algunos trabajos previos se han descrito la presencia de las antocianinas cianidina-3-glucósido, delphinidina-3-glucósido en frijol de color negro, petunidina-3-glucósido y malvidina-3-glucósido en frijol de color rosado y negro (Chen *et al.*, 2015b; Mojica *et al.*, 2015).

Las antocianinas del grano de frijol se localizan generalmente en la testa, sin embargo, se han encontrado también en el hipócotilo y el cotiledón. La síntesis de antocianinas en todas las especies de *Phaseolus* se realiza en la capa subepidérmica, a excepción de *P. coccineus*, donde la pigmentación aparece en la epidermis, dentro del cuerpo celular llamado antocianoplasto (Salinas-Moreno *et al.*, 2005).

La incorporación de antocianinas como colorantes alimenticios, además de mejorar la apariencia total, tienen efectos benéficos para la salud. Diversos estudios presentan evidencia científica de que los extractos ricos en antocianinas pueden mejorar la agudeza visual, mostrar actividad antioxidante, atrapar radicales y actuar como agentes quimioprotectores. Las antocianinas también juegan un papel en las propiedades antidiabéticas tales como control de lípidos y secreción de insulina (Shipp y Abdel-Aal, 2010).

Chávez-Santoscoy *et al.* (2016b) incorporaron un extracto de antocianinas de testa de frijol negro en tortilla de maíz azul, encontrando que la pérdida de estos compuestos fue del 12-19% por lo tanto estos resultados sugieren la adición de antocianinas provenientes de frijol para su conservación en la tortilla azul después del proceso de nixtamalización.

7.2.4 Actividad antioxidante en testa

En el Cuadro 12 la actividad antioxidante se registró en mayor concentración en las poblaciones pertenecientes a la región de la Sierra Norte con un valor de 1021.5 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs, encontrando diferencias entre las regiones de origen. Respecto a las variedades comerciales mostró diferencia significativa la muestra negro black horse con mayor actividad antioxidante (969.0 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs). Sin embargo, la región Mixteca, Sierra Norte y Valles Centrales presentaron mayor actividad antioxidante (674.2-734.5 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs) que las variedades comerciales peruano, pinto, negro tropical y flor de mayo (188.2-659.7 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs).

En el Cuadro 13 la actividad antioxidante se registró en un intervalo de 14.26-1497.23 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs, donde la mayor concentración corresponde a la población 31 (frijol de color negro) con un valor de 1497.23 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs y pertenece a la región de la Sierra Norte, esto es superior a lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) con un valor de 1021.7 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs para frijol negro del estado de Oaxaca. La población 67 es un frijol blanco y presentó la menor concentración con 14.67 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs.

7.2.5 Polifenoles totales en grano

En el grano de frijol se encontraron diferencias entre las regiones de origen para polifenoles totales (Cuadro 12) siendo la región de los Valles Centrales la que mostró el mayor valor (2.8 mg EAG g^{-1} bs). Las regiones Mixteca, Sierra Norte y Sierra Sur mostraron un promedio mayor (2.45-2.57 mg EAG g^{-1} bs) a las variedades comerciales peruano, pinto y flor de mayo (1.59-2.7 mg EAG g^{-1} bs).

De manera particular en el Cuadro 13 se muestra el contenido de polifenoles totales para la población 03 (frijol de color rojo) que presentó mayor contenido de polifenoles con un valor de 16.21 mg EAG g^{-1} bs y pertenece a la región de los Valles Centrales esto es mayor a lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) para frijol rojo del estado de Guerrero con un intervalo de 1.4-2.6 mg EAG g^{-1} bs, en menor concentración se encontró

la población 32 (frijol con una mezcla de color bayo y negro) con un valor de 1.64 mg EAG g⁻¹ bs esto es inferior a lo reportado por Guajardo-Flores *et al.* (2013) para frijol negro San Luis (2.2 mg EAG/g).

7.2.6 Flavonoides en grano

Para flavonoides en grano (Cuadro 12) la región de los Valles Centrales presentó la mayor concentración de estos compuestos (0.37 mg EAG g⁻¹ bs) seguido de las regiones Mixteca, Sierra Norte y Sierra Sur las cuales no presentaron diferencias entre ellas. Respecto a las variedades comerciales negro tropical y flor de mayo presentaron concentraciones similares a las poblaciones nativas.

Para flavonoides en grano la población 06 (Cuadro 13) mostró la mayor concentración la cual corresponde a un frijol de color negro perteneciente a la región de los Valles Centrales, presentando una concentración de 0.57 mg ECat g⁻¹ bs, esta concentración se encuentra entre los valores reportados por Akillioglu y Karakaya (2010) para frijol negro cultivado en Turquía (0.14-1.27 mg ECat/g). La menor cantidad de estos compuestos en grano se encontró en la población 59 (frijol de color amarillo) con un valor de 0.17 mg ECat g⁻¹ bs, cuyo origen es la región Mixteca, esto es inferior a lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) para frijol amarillo originario del estado de Puebla con un valor de 0.54 mg ECat/g bs.

Boateng *et al.* (2008) han descrito que existe menor concentración de flavonoides en frijol de color claro que en frijoles coloridos. Se ha identificado la presencia de flavonoides como catequina, quercetina, rutina y kaempferol en el grano de frijol (Espinosa-Alonso *et al.* 2006; Laparra *et al.*, 2008; Lin *et al.* 2008; Guajardo-Flores *et al.*, 2012; Moreno-Jiménez *et al.*, 2014). Por otro lado, Oomah *et al.* (2005) concluyen que la presencia de flavonoides en la testa del frijol contribuye con actividades antioxidantes y antirradicales.

7.2.7 Actividad antioxidante en grano

En el cuadro 12 se muestra la actividad antioxidante en grano de frijol encontrando diferencias entre las regiones Mixteca y Valles Centrales, siendo en los Valles Centrales donde se registró el mayor promedio ($10.2 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ bs}$) seguido de la región de la Sierra Norte y Sierra Sur. Las variedades comerciales mostraron menor concentración en este parámetro comparado con las poblaciones nativas a excepción de la muestra comercial negro tropical ($9.1 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ bs}$).

En el Cuadro 13 la población 03 (frijol de color rojo) registró la mayor actividad antioxidante en grano ($16.21 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ bs}$) y pertenece a la región de los Valles Centrales, esta concentración se encuentra entre el intervalo reportado por Xu y Chang *et al.* (2012) para harina de frijol rojo cultivado en China ($13.8\text{-}19.4 \mu\text{mol Eq. Trolox/g}$). La menor actividad antioxidante en grano se presentó con una concentración de $3.82 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ bs}$ en la población 54 (frijol de color rojo) cuyo origen es de la Sierra Sur, esto es inferior a lo reportado por Aquino-Bolaños *et al.* (2016) con un valor de $7.1 \mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1} \text{ bs}$ para frijol de color rojo cosechado del estado de Guerrero.

La testa representa el 10% del total del grano, en la cual se encuentra el mayor contenido de compuestos fenólicos y la presencia de estos compuestos imparte la mayor actividad antioxidante. Se puede apreciar que el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en el grano, es menor respecto a la testa (Dueñas *et al.*, 2006; Chel-Guerrero *et al.*, 2012). Madhujith *et al.* (2004) concluyen que la mayor actividad antioxidante se encuentra en frijoles de color oscuro que en frijol de colores claros.

Estas poblaciones presentan diferencias en el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante que se asocian de acuerdo a la región de origen, esta información ayuda en la selección de poblaciones nativas con las características físicas y químicas más adecuadas para la promoción del mejoramiento y conservación de los cultivos.

7.3 Parámetros de color en testa

El uso de los parámetros de color (L^* , C^* , y h°) (Cuadro 13) fueron útiles para diferenciar entre las poblaciones de acuerdo con el color de la testa de la semilla del frijol. Por ejemplo, el índice de cromaticidad distingue frijol rojo de frijol negro; el ángulo de matiz (h°) fue el más preciso, ya que asigna una puntuación a cada color gradual o variante. De esta manera, todas las poblaciones de frijol evaluados fueron clasificadas cuantitativamente. En este caso, los valores más bajos corresponden a los granos percibidos como rosa o rojo, y los valores más altos corresponden a los granos percibidos como negro.

Mojica *et al.* (2015) reportaron para frijol negro cosechado en el estado de Zacatecas un intervalo en el parámetro de luminosidad de 19.6-23.9, esto es inferior a los valores encontrados en las poblaciones nativas de color negro (42.13-62.02) en cromaticidad reportaron un intervalo de 0.8-1.0, esto es inferior a los valores registrados en las poblaciones nativas (3.24-8.82) en el ángulo de matiz se registró un intervalo para frijol de color negro de 43.77-83.32, estos valores se encuentran cercanos a lo reportado por estos mismos autores (76.3-81.1).

De manera general se encontró mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa que en el grano de la semilla de frijol como se muestra en el Cuadro 14. Estos resultados indican que el método de separación de ambas partes es adecuado para obtener valores precisos de estos compuestos en testa y grano por separado.

El uso de productos vegetales como ingredientes funcionales en los alimentos está aumentando rápidamente, por su rentabilidad y las mejoras en la calidad nutricional del producto (Chel-Guerrero *et al.*, 2012). Posibles aplicaciones de los granos descascarados se pueden determinar a partir de sus propiedades funcionales por la presencia de compuestos fenólicos y la digestibilidad de la proteína (Romano *et al.*, 2015).

Cuadro 14. Compuestos con actividad antioxidante en grano y testa de 54 poblaciones de frijol nativo.

Parámetro	Testa	Grano
Polifenoles totales (mg EAG g ⁻¹ b. s.)	1.33-248.97*	1.64-3.59*
Flavonoides (mg ECat g ⁻¹ b. s.)	0.15-24.23*	0.17-0.57*
Antocianinas monoméricas (mg C3G g ⁻¹ b. s.)	0.01-6.76*	-
Actividad antioxidante (μmol Eq Trolox g ⁻¹ b. s.)	14.26-1,497.23 *	3.83-16.21*

*Los valores son promedios de 4 mediciones de 54 poblaciones de frijol nativo.

Además, debido al elevado valor nutricional de sus proteínas, la harina de frijol podría utilizarse como sustitutos de la harina de trigo en los alimentos para los pacientes afectados de enfermedad celíaca (Romano *et al.*, 2015).

7.4 Análisis de componentes principales

En el análisis de componentes principales (CP) los dos primeros explicaron el 72.15 % de la variación total (Cuadro 15). Las características de mayor importancia en la explicación del componente principal 1 con un 43.98% fueron polifenoles totales, actividad antioxidante, antocianinas monoméricas en testa y cromaticidad. El componente principal 2 con el 28.17 % fue explicado por las variables de flavonoides en testa, el parámetro de color a* y ángulo de matiz (h°).

De los valores obtenidos de la matriz de datos de los dos componentes principales, la Figura 16 muestra el agrupamiento de las poblaciones de acuerdo al color visual, encontrando en el cuadrante superior derecho (I) frijol de color negro y mezcla de negro con morado y bayo, el cuadrante superior izquierdo (II) se encuentra el agrupamiento de frijol rojo y frijol con una mezcla de color amarillo, rojo, rosado negro y pinto. El cuadrante

inferior izquierdo (III) se ubica frijol de color amarillo, blanco, rosado y mezcla de rojo con blanco, las poblaciones de color negro, pinto y mezcla de bayo con negro se localizan en el cuadrante inferior derecho (IV).

Cuadro 15. Valores y vectores propios de los dos primeros componentes principales (CP) de la descripción de 54 poblaciones de frijol nativo con base a las variables de compuestos con actividad antioxidante y parámetros de color.

VARIABLES	CP1	CP2
PT en testa	0.366792	0.315933
AA en testa	0.343819	0.326457
FT en testa	0.08742	0.502426
AM	0.461721	-0.007231
a*	-0.524488	0.538147
b*	-0.271126	-0.160918
L*	-0.131892	-0.143592
C*	-0.338353	-0.008884
h°	0.172403	-0.422293
Variación explicada (%)	43.98	28.17
Variación acumulada (%)	43.98	72.15

PT= Polifenoles totales; AA= actividad antioxidante; FT= flavonoides totales; AM= antocianinas monoméricas; L*= luminosidad; C*= cromaticidad; h°= ángulo de matiz.

De acuerdo a las variables evaluadas, las muestras de color negro y mezcla de negro con morado mostraron mayor relación en contenido de polifenoles, flavonoides, antocianinas monoméricas y actividad antioxidante, le siguen las muestras de color rojo y rosado. Respecto a las muestras control presentaron menor relación de estas variables la variedad comercial peruano y pinto, esto debido a que son frijoles de color claro. Además, no se encontró un agrupamiento de las muestras de acuerdo a su color visual, concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante asociado a la región de origen.

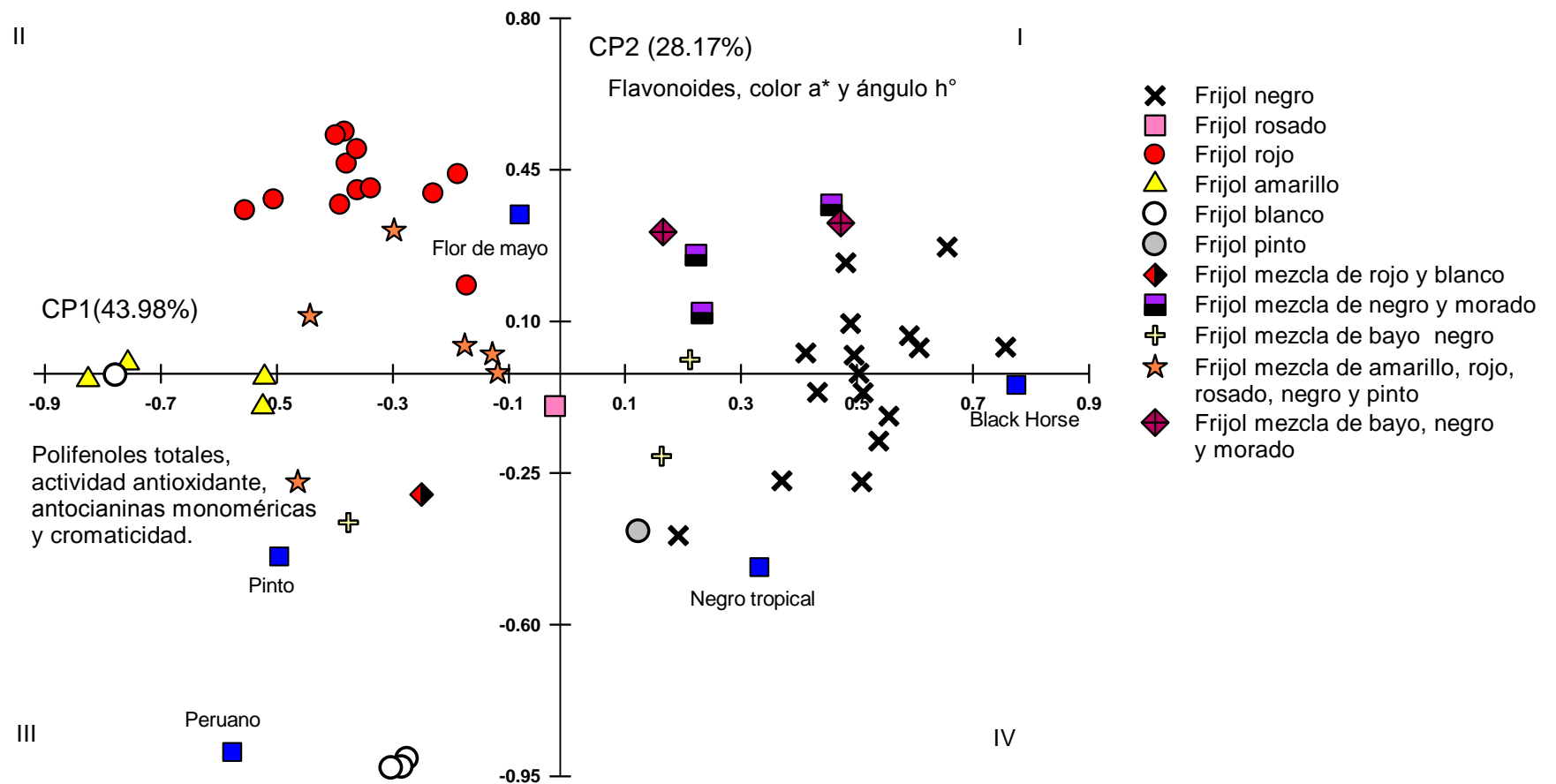


Figura 16. Relación de los componentes principales (CP1 y CP2) de las 54 poblaciones de frijol nativo de acuerdo al color visual del frijol.

Reyes-Martínez *et al.* (2014) reportaron una relación similar en polifenoles totales, flavonoides y color de la testa de frijol, encontrando mayor agrupamiento en frijol de color negro con mayor correlación de estos parámetros que en frijol de color claro y variedades comerciales, flor de mayo y pinto. Este agrupamiento de las poblaciones nativas de acuerdo al color y las variables evaluadas muestran una mayor interacción, lo cual resulta interesante para futuras investigaciones, siendo estas poblaciones utilizadas para evaluaciones sobre su potencial biológico en modelos *in vivo* o aplicaciones en la industria alimentaria.

En el cuadro 16 se muestra la correlación entre las variables evaluadas de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa de grano de frijol. Se obtuvo una correlación de 0.80 entre polifenoles totales y actividad antioxidante, esto es superior a lo reportado por Cardador-Martínez *et al.* (2002) quienes reportan una correlación de 0.76 entre los extractos de polifenoles de frijol flor de mayo con actividad antioxidante utilizando el método de DPPH, lo cual es importante observar que las poblaciones de frijol nativo mostraron mayor correlación en estos parámetros comparado con variedades comerciales.

Cuadro 16. Relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en testa y el color en 54 poblaciones del frijol nativo.

Variable	PT	AA	FT	AM	L*	C*	h°
PT	1.00	0.80	0.54	0.49	-0.42	-0.29	0.03
AA	0.80	1.00	0.57	0.50	-0.54	-0.28	0.01
FT	0.54	0.57	1.00	0.07	-0.40	-0.02	-0.31
AM	0.49	0.50	0.07	1.00	-0.50	-0.43	0.25
L*	-0.42	-0.54	-0.40	-0.50	1.00	0.28	0.06
C*	-0.29	-0.28	-0.02	-0.43	0.28	1.00	0.05
h°	0.03	0.01	-0.31	0.25	0.06	0.05	1.00

PT= polifenoles totales; AA= actividad antioxidante; FT= flavonoides totales; AM= antocianinas monoméricas; L*= luminosidad; C*= cromaticidad; h°= ángulo de matiz. Valores en color rojo muestran correlación con una significancia de $P < 0.05$.

Además, se encontró una correlación de los compuestos fenólicos y actividad antioxidante con los parámetros de color, mostrando mayor valor en antocianinas monoméricas, lo cual resulta de gran interés para futuras investigaciones para conocer el perfil de estos compuestos que puedan estar relacionados con el color de la testa del frijol.

7.5 Identificación de compuestos fenólicos libres, enlazados y conjugados

Para el análisis de cromatografía líquida de alta resolución, se utilizaron diez poblaciones de frijol nativo, las cuales representaron la variabilidad de color de las 54 poblaciones de frijol.

En los tres extractos analizados (fenoles libres, enlazados y conjugados) se identificaron cinco compuestos fenólicos en poblaciones de frijol nativo de diferente color de acuerdo a su tiempo de retención y espectro de absorbancia a 280 y 320 nm (Cuadro 17). En las Figuras A 9, A10, y A11 (Consultar apéndice) se muestran cromatogramas característicos de los extractos de fenoles libres, enlazados y conjugados.

Cuadro 17. Compuestos fenólicos identificados en muestras de frijol nativo de acuerdo al tiempo de retención y espectro de absorbancia.

Compuesto fenólico	Tiempo de retención	λ máxima (nm)
Ácido clorogénico	14.10	320
Ácido. vanílico	15.88	280
Ácido <i>p</i> -cumárico	19.96	320
Ácido ferúlico	20.91	320
Quercetina	27.37	320

En el análisis de varianza (Cuadro 18) con un coeficiente de variación menor a 33.9 se encontraron diferencias de acuerdo a los compuestos identificados en las diferentes fracciones (fenoles libres, enlazados y conjugados) entre las poblaciones de frijol nativo analizadas, encontrando mayor presencia de compuestos fenólicos en la fracción de fenoles libres, en las fracciones de fenoles enlazados y conjugados sólo se identificó al ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico.

Cuadro 18. Significancia de cuadrados medios del análisis de varianza de los compuestos fenólicos identificados en las fracciones fenoles libres, enlazados y conjugados en las poblaciones de frijol nativo.

Fuente de variación	Fenoles libres			Fenoles enlazados		Fenoles conjugados	
	CG	Ferúlico	Quercetina	Ferúlico	Cumárico	Ferúlico	Cumárico
Rep	191.6ns	1.94ns	10.6ns	488.9ns	3581.7ns	1171.8ns	18.6ns
Pob	3247.7**	174.10**	28.9*	1229974.4**	38581.9**	24240.3**	41481.1**
Error	185.7	3.48	4.2	59643.2	1189.8	462.8	18.6
CV (%)	33.9	12.3	9.2	15.7	10.4	10.2	4.4

CG= ácido clorogénico; CV= coeficiente de variación; ns= no significativo; *=P<0.05; **=P<0.01.

7.5.1 Compuestos fenólicos libres

En el Cuadro 19 se muestra la comparación de medias del área bajo la curva de las poblaciones de frijol nativo contra la variedad comercial flor de mayo de acuerdo al contenido de compuestos fenólicos identificados en forma libre. El ácido clorogénico se encontró en la mayoría de las poblaciones de frijol analizadas, presentando mayor área bajo la curva en la población 64 (frijol de color rojo) y pertenece a la región Mixteca, también se identificó en poblaciones de color negro.

Xu y Chang (2009) reportaron la presencia de ácido clorogénico en frijol de color negro en la fracción de fenoles libres, debido a la acción del hidrólisis ácida, la cual libera a los ácidos fenólicos de las formas unidas, por lo cual éste ácido no aparece en las fracciones de fenoles enlazados y conjugados.

Cuadro 19. Comparación de medias entre poblaciones de frijol vs variedad comercial para el contenido de compuestos fenólicos libres.

Fenoles libres				
Población	CG	FE	QUER	VAN
Pob-05 ^b	-	-	-	-
Pob-17 ^{m*}	970 ^c	125.4 ^b	-	-
Pob-18 ^{n*}	-	-	-	-
Pob-19 ^{r*}	880 ^d	-	-	-
Pob-26 ^{m*}	-	130.4 ^b	-	-
Pob-33 ^{m*}	963 ^c	-	22.1 ^{ab}	-
Pob-48 ^{n*}	535 ^e	-	25.2 ^a	-
Pob-58 ^{r*}	811 ^d	-	-	-
Pob-64 ^{r*}	1117 ^b	-	-	-
FM ^{rs*}	11862 ^a	522.9 ^a	19.8 ^b	143.4 ^a

CG= ácido clorogénico; FE= ácido ferúlico; QUER= quercetina; VAN= ácido vanílico; FM= flor de mayo. Valores con diferente letra son significativamente diferentes por columnas (P<0.05). ^{b*}=blanco, ^{r*}=rojo, ^{n*}=negro, ^{rs*}= rosado, ^{m*}=mezcla de negro, morado; rojo con blanco y amarillo con rosado y negro.

El ácido ferúlico fue identificado en tres poblaciones nativas mostrando mayor área bajo la curva en la población 26 (frijol con una mezcla de color negro, bayo y morado) y pertenece a la región Mixteca. Chen *et al.* (2015a) reportaron la presencia del ácido ferúlico en la fracción de fenoles libres y conjugados en frijol de color negro y blanco. Quercetina fue identificado con mayor área bajo la curva en la población 48 el cual es un frijol de color negro y pertenece a la región de la Sierra Sur.

García-Lafuente *et al.* (2014) encontraron el flavonoide quercetina en la fracción de fenoles libres en frijol de color negro con morado cultivado en España.

El ácido vanílico únicamente fue identificado en la variedad comercial flor de mayo, siendo en esta muestra comercial en donde se identificaron los demás ácidos fenólicos antes mencionados, esto es similar a lo reportado por Mojica *et al.* (2015) quienes encontraron éste ácido en la fracción de fenoles libres en frijol flor de mayo. Por otro lado, Aguilera *et al.* (2011) reportan la presencia de ácido vanílico en frijol de color claro cultivado en España, de igual manera encontraron actividad antioxidante relacionada con la presencia de compuestos fenólicos en harina de frijol.

7.5.2 Compuestos fenólicos enlazados y conjugados

En el Cuadro 20 se muestra la comparación de medias del área bajo la curva de las poblaciones de frijol nativo contra la variedad comercial flor de mayo en la fracción de fenoles enlazados y conjugados, identificando en ambas fracciones con diferentes áreas bajo la curva al ácido ferúlico y *p*-cumárico. En la fracción de fenoles enlazados se encontró al ácido ferúlico con mayor área bajo la curva en la población 18 (frijol de color negro) y pertenece a la región Mixteca, esto coincide con lo reportado por Chen *et al.* (2015b) quienes realizaron una hidrólisis ácida para la obtención de fenoles enlazados a la pared celular encontrando en la fracción de fenoles unidos al ácido ferúlico, en frijol negro.

En la fracción de fenoles enlazados el ácido *p*-cumárico presentó mayor área bajo la curva en la población 05, este frijol es de color blanco y es de la región de los Valles Centrales, esto es similar a lo reportado por Chen *et al.* (2015b) para frijol blanco cultivado en Canadá quienes identificaron la presencia del ácido *p*-cumárico en la fracción de fenoles enlazados y conjugados. Respecto a la muestra control flor de mayo, se encontró la presencia del ácido ferúlico y *p*-cumárico.

Cuadro 20. Comparación de medias del área bajo la curva de las poblaciones de frijol nativo vs la variedad comercial flor de mayo para los compuestos fenólicos enlazados y conjugados identificados.

Población	Fenoles enlazados		Fenoles conjugados	
	FE	CU	FE	CU
Pob-05 ^{b*}	-	397.3 ^b	278.2 ^b	77.8 ^c
Pob-17 ^{m*}	1599.7 ^c	-	169.1 ^d	49.5 ^e
Pob-18 ^{n*}	2264.3 ^a	-	-	72.3 ^{cd}
Pob-19 ^{r*}	-	286.4 ^c	-	104.6 ^b
Pob-26 ^{m*}	1204.2 ^e	332.8 ^{bc}	251.8 ^c	65.5 ^d
Pob-33 ^{m*}	-	-	-	338.5 ^a
Pob-48 ^{n*}	1449.0 ^d	-	106.7 ^f	-
Pob-58 ^{r*}	-	-	301.2 ^a	72.6 ^{cd}
Pob-64 ^{r*}	747.2 ^e	192.5 ^d	153.0 ^e	-
FM ^{rs}	2050.4 ^b	445.0 ^a	-	-

FE= ácido ferúlico; CU= ácido *p*-cumárico; FM= flor de mayo. Valores con diferente letra son significativamente diferente por columnas (P<0.05). ^{b*}=blanco, ^{r*}=rojo, ^{n*}=negro, ^{rs*}=rosado, ^{m*}=mezcla de negro, morado y bayo; rojo con blanco y amarillo, rosado y negro.

En la fracción de fenoles conjugados se identificó al ácido ferúlico y *p*-cumárico encontrando diferencias entre las poblaciones, siendo la población 58 (frijol de color rojo) la que presentó mayor área bajo la curva del ácido ferúlico, seguido de las poblaciones 05 y 26 (frijol de color blanco y mezcla de negro con morado, respectivamente) esto coincide con lo reportado por Chen *et al.* (2015a) para frijol blanco y negro encontrando en la fracción de fenoles conjugados al ácido ferúlico.

El ácido *p*-cumárico fue encontrando en mayor cantidad en la población 33 la cual es una población con una mezcla de color rojo y blanco y es originaria de la región de la Sierra Norte, esto es similar a lo reportado por Díaz-Batalla *et al.* (2006) para frijol cultivado en México encontrando en frijol rojo la presencia de este ácido.

Respecto a la variedad comercial flor de mayo utilizada como muestra control, no se identificaron ninguno de los compuestos fenólicos conjugados, por lo cual se puede pensar que la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en esta variedad se encuentran en forma libre o el método de extracción de estos compuestos no fue el adecuado.

Los compuestos fenólicos pueden encontrarse en estado libre, conjugados con azúcares o ésteres; enlazados a los polisacáridos y proteínas; y/o polimerizados, y no se distribuyen uniformemente en los tejidos o células, con base en lo anterior resulta importante analizar por separado los cotiledones y la testa de los granos de frijol para conocer con precisión el contenido y presencia de estos compuestos en estas fracciones (Mujica *et al.*, 2012).

Los resultados en la identificación de compuestos fenólicos en las diferentes fracciones (libres, enlazados y conjugados) mostraron que existe relación entre los compuestos fenólicos y el color de la semilla del frijol, además se considera que el método de extracción de estos compuestos propuesto por Aguilera *et al.* (2011) y García-Lafuente *et al.* (2014) no es el más adecuado para conocer con precisión la concentración y presencia de compuestos fenólicos en testa y grano, ya que utilizaron toda la semilla del frijol, por lo cual se sugiere se realice la separación de estas dos partes para resultados más precisos.

Espinosa-Alonso *et al.* (2006) reportaron mayor presencia de ácido ferúlico y quercetina en frijol de color negro que en frijol de color amarillo, además encontraron mayor concentración de ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico en frijol con mezcla de colores. García-Lafuente *et al.* (2014) reportaron la presencia de estos compuestos fenólicos en frijol de color blanco y morado, demostrando que hay mayor actividad antioxidante y mayor acción antiinflamatoria de extractos metanólicos de frijol de color morado que en frijol de color blanco.

Los compuestos fenólicos han sido sugeridos como sustitutos ideales para funcionar como conservadores en las formulaciones de alimentos debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, la FDA (Food and Drug Administration por sus siglas en inglés) clasifica al ácido ferúlico como antioxidante en la lista de aditivos alimentarios (Fazary y Ju, 2007). Los compuestos fenólicos se pueden usar alternativamente como ingredientes funcionales para mejorar la capacidad antioxidante de los alimentos procesados y para proporcionar los beneficios para la salud asociados con estos fitoquímicos (Acosta-Estrada *et al.*, 2014).

Grajales-García *et al.* (2012) reportaron que el contenido de polifenoles totales aumentaba en tortillas de maíz adicionadas con frijol negro (16.8 mg) y además el contenido era mayor a lo reportado en alimentos considerados ricos en polifenoles como el brócoli (12.04 mg/g) y la espinaca (12.75 mg/g), lo cual indica un buen aporte de estos compuestos por parte del frijol, por lo tanto, la mezcla del frijol con otros alimentos aumenta el valor nutritivo de los mismos.

Chávez-Santoscoy *et al.* (2016b) elaboraron galletas y tortillas mezcladas con harina de frijol y un extracto de flavonoides obtenido de la testa de frijol negro, encontrando que la incorporación de la harina de frijol en la formulación de las galletas y tortillas no cambiaban sus características de textura, además después de los procesos de horneado a los que fueron sometidos los flavonoides incorporados se conservaron en un 79% para la tortilla y 72% para la galleta. Resulta interesante en la adición de compuestos fenólicos en productos de panadería ya que no cambian las propiedades del producto y se mantiene el mayor porcentaje de estos compuestos.

8. CONCLUSIONES

Las características físicas para las 54 poblaciones de frijol nativo fueron diferentes para cada una de ellas, además al ser evaluadas dentro de cada grupo de acuerdo a la región de origen también presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$), encontrando amplia diversidad en morfo tipos y tamaños.

En la región de la Sierra Norte se encontraron frijoles con mayores dimensiones en largo, ancho y grosor de la semilla, además de presentar mayor peso de semilla; frijol de tamaño pequeño se encontró en la región de los Valles Centrales.

Las variedades comerciales utilizadas como muestras control presentaron diferencias en tamaño y peso comparadas con los valores promedio de las poblaciones por región.

Se encontró una amplia variabilidad de colores en las poblaciones de frijol nativo además de amplia dispersión en concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en las poblaciones de frijol nativo.

Hay mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la testa de frijol, principalmente en frijol de color negro, combinaciones de negro con morado y frijol rojo, siendo menor la concentración de estos compuestos en frijol de color claro, blanco y en el grano del frijol.

El método de separación manual de grano y testa fue adecuado para conocer la concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en las fracciones analizadas.

Las variedades comerciales flor de mayo y negro black horse presentaron concentraciones menores en los compuestos fenólicos y actividad antioxidante respecto a las muestras de frijol nativo.

Existe correlación entre polifenoles totales y la actividad antioxidante.

En el análisis de componentes principales se logró observar el agrupamiento de las poblaciones nativas de acuerdo al color de la semilla relacionado con los compuestos fenólicos y actividad antioxidante; sin embargo, no se encontró agrupamiento de acuerdo a la región de origen.

Se identificaron los ácidos fenólicos, clorogénico, ferúlico, *p*-cumárico, vanílico y el flavonoide quercetina en frijol de diferentes colores, en las fracciones de fenoles libres, enlazados y conjugados utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El método de extracción de compuestos fenólicos utilizando harina de frijol no fue el adecuado para identificar los compuestos que se encuentran en esta semilla.

Las poblaciones nativas de acuerdo a las concentraciones y presencia de compuestos fenólicos presentan características potenciales para ser utilizadas en la industria alimentaria como nutraceuticos o formar parte de alimentos funcionales.

9. BIBLIOGRAFÍA

AACC 2001. Report of the Dietary Fiber Definition Committee to the Board of Directors of the American Association of Cereal Chemistry Vol: 46: 3.

Acosta-Estrada B. A., Gutiérrez-Uribe J. A. and Serna-Saldívar S. O. 2014. Bound phenolics in foods, a review. Food Chemistry 152: 46-55.

Aguilera Y., Estrella I., Benitez V., Esteban R. M. and Martín-Cabreja M. A. 2011. Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated bean flours. Food Research International 44: 774-780.

Aguilera-Ortíz M., Reza-Vargas M., Chew-Madinaveita R. G. y Meza-Velázquez J. A. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. BIOtecnia 13: 16-22.

Akillioglu H. G. and Karakaya S. 2010. Changes in total phenols, total flavonoids, and antioxidant activities of common beans and pinto beans after soaking, cooking, and in vitro digestion process. Food Science and Biotechnology 19: 633-639.

Akond A., Khandaker L., Berthold J., Gates L., Peters K., DeLong H. and Hossain K. 2011. Anthocyanin, total polyphenols and antioxidant activity of common bean. American Journal of Food Technology 6: 385-394.

Aparicio-Fernández X., Yousef G. G., Loarca-Piña G., De Mejia E. and Lila M. A. 2005. Characterization of polyphenolics in the seed coat of black Jamapa bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 4615-4622.

Aquino-Bolaños E. N., García-Díaz Y. D., Chávez-Servia J. L., Carrillo-Rodríguez J. C., Vera-Guzmán A. M. and Heredia-García E. 2016. Anthocyanins, polyphenols, flavonoids and antioxidant activity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces. Emirates Journal of Food and Agriculture 28: 1.

Aremu M. O., Olaofe O., Basu S. K., Abdulazee G. and Acharya S. N. 2010. Processed cranberry bean (*Phaseolus coccineus* L.) seed flour for the African diet. Canadian Journal of Plant Science 90: 719-728.

Badui D. S. 2006. Química de los Alimentos. Editorial Pearson Educación México, cuarta edición pp. 442.

Batista K. A., Prudencio S. H. and Fernandes K. F. 2010. Changes in the functional properties and antinutritional factors of extruded hard-to-cook common beans (*Phaseolus vulgaris*, L.). Journal of Food Science 75: 286-290.

Bendaña S. G. 2014. Estudio de la cadena de frijol negro. UNAG - CODESPA Publ. 1 (Disponible en línea en: [http://www.observatorioredsicta.info/sites/default/files/docpublicaciones / 2014_informe_cadena_frijo_negro.pdf](http://www.observatorioredsicta.info/sites/default/files/docpublicaciones/2014_informe_cadena_frijo_negro.pdf)) (Consulta: 8 de Abril de 2015).

Biodiversidad Mexicana. 2011. Frijol. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad (Disponible en línea en <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/alimentacion/frijol.html>) (Consulta: 16 de Marzo de 2015).

Boateng J., Verghese M., Walker L. T. and Ogutu S. 2008. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). LWT - Food Science and Technology 41: 1541-1547.

- Bravo L. 1998.** Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56: 317-333.
- Brand-Williams W., Cuvelier M. and Berset C. 1995.** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft and Thechnologie* 28: 25-30.
- Cardador-Martínez A., Loarca-Piña G. and Oomah B. D. 2002.** Antioxidant Activity in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6975-6980.
- Chávez-Santoscoy R. A., Lazo-Vélez M. A., Serna-Sáldivar S. O. and Gutiérrez-Urbe J. A. 2016a.** Delivery of flavonoids and saponins from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats incorporated into whole wheat bread. *International Journal of Molecular Sciences* 17: 222.
- Chávez-Santoscoy R. A., Gutiérrez-Urbe J. A., Serna-Saldivar S. O. and Perez Carrillo E. 2016b.** Production of maize tortillas and cookies from nixtamalized flour enriched with anthocyanins, flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris*) seed coats. *Food Chemistry* 192: 90-97.
- Chel-Guerrero L., Domínguez-Magaña M., Martínez-Ayala A., Dávila-Ortiz G. and Betancur-Ancona D. 2012.** Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. *Food and Nutrition Sciences* 3: 511-521.
- Chen P. X., Bozzo G.G., Freixas-Coutin J.A., Marccone M. F., Pauls P. K., Tang Y., Zhang B., Liu R. and Tsao R. 2015a.** Free and conjugated phenolic compounds and their antioxidant activities in regular and nondarkening cranberry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats. *Journal of Functional Foods*. 18: 1756-4646.

Chen P. X. Tang Y., Massimo M. F., Pauls. P. K., Zhang B., Liu R. and Tsao R.

2015b. Characterization of free, conjugated and bound phenolics and lipophilic antioxidants in regular- and non-darkening cranberry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* 185: 298-308.

Clifford M. 2000. Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1063-1072.

Debouck D. G. 1984. Morfología de la planta de frijol común, *Phaseolus vulgaris* CIAT No. 12695.

Decker E. A. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Reviews* 53: 49-58.

Díaz-Batalla L., Widholm J. M., Fahey G. C., Castaño-Tostado E. and Paredes-López O. 2006. Chemical components with health implications in wild and cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 2045-2052.

Dueñas M., Hernández T. and Estrella I. 2006. Assessment of in vitro antioxidant capacity of the seed coat and the cotyledon of legumes in relation to their phenolic contents. *Food Chemistry* 98: 95-103.

Dzomba P. 2013. Anthocyanin content and antioxidant activities of common bean species (*Phaseolus vulgaris* L) grown in Mashonaland Central, Zimbabwe 8 (25): 3330-3333.

Espinosa-Alonso L. G., Lygin A., Widholm J. M., Valverde M. E. and Paredes-López O. 2006. Polyphenols in Wild and Weedy Mexican Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 4436-4444.

Espinoza-García N., Martínez-Martínez R., Chávez-Servia J.L., Vera-Guzmán A.M., Carrillo-Rodríguez J.C., Heredia-García E. y Velasco-Velasco V.A. 2016. Contenido de minerales en semilla de poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista Fitotecnia Mexicana. *En prensa*.

Espinosa-Pérez E. N., Ramírez-Vallejo P., Crosby-Galván M. M., Estrada- Gómez J. A., Lucas-Florentino B. y Chávez-Servia J. L. 2015. Clasificación de poblaciones nativas de frijol común del centro-sur de México por morfología de semilla Revista Fitotecnia Mexicana Vol. 29: 29-38.

Estrada G., Guillén G., Olivares J. E., Díaz C. y Alvarado X. 2007. La transformación genética y genómica del frijol. Una ventana al Quehacer Científico 281-290.

Ezeagu I. E. and Ibegbu M. D. 2010. Biochemical composition and nutritional potential of ukpa: a variety of tropical lima beans (*Phaseolus lunatus*) from Nigeria-a short report. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences 60: 231-235.

FAO 2001. Macronutrientes: Carbohidratos, grasas y proteínas. Capítulo 9 Depósito de documentos de la FAO Disponible en línea en <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0d.htm> (Consulta: 8 de Julio de 2016).

Fazary A. E. and Ju Y. H. 2007. Feruloyl esterases as biotechnological tools: Current and future perspectives. Acta Biochimica et Biophysica Sinica 39: 811-828.

Frazier E. G. 2006. Préstamos del náhuatl al español mexicano. *Hesperia: Anuario de filología hispánica* 9: 75-86.

- Gallegos-Infante J. A., Gasca T. G., González-Laredo R. F. and Ramos-Gómez M. 2013.** Evaluation of culinary quality and antioxidant capacity for Mexican common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) canned in pilot plant. International Food Research Journal 20: 1087-1093.
- Garcia O., Infante R. and Rivera C. 1997.** Determination of total, soluble and insoluble dietary fibre in two new varieties of *Phaseolus vulgaris* L. using chemical and enzymatic gravimetric methods. Food Chemistry 59: 171-174.
- García-Lafuente A., Moro C., Manchón N., Gonzalo-Ruiz A., Villares A., Guillamón E., Rostagno M. and Mateo-Vivaracho L. 2014.** In vitro anti-inflammatory activity of phenolic rich extracts from white and red common beans. Food Chemistry 161 216-223.
- Grajales García E. M. 2012.** Estudio de la digestibilidad del almidón y capacidad antioxidante de una tortilla elaborada con una mezcla de maíz de alta calidad proteínica (*zea mays* L.) y frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional. México 85 p.
- Guajardo-Flores D., García-Patiño M., Serna-Guerrero D., Gutiérrez-Uribe J. and Serna-Saldívar S. 2012.** Characterization and quantification of saponins and flavonoids in sprouts, seed coats and cotyledons of germinated black beans. Food Chemistry 134: 1312-1319.
- Guajardo-Flores D., Serna-Saldivar S. O. and Gutiérrez-Uribe J. A. 2013.** Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Food Chemistry 141: 1497-1503.
- Hidalgo R., Song L. and Gepts P. 1980.** Diversidad Genética de las especies cultivadas del género *Phaseolus*. Guía para estudio. CIAT S04SB-09.02

- Kleintop A. E., Echeverria D., Brick L. A., Thompson H. J. and Brick M. A. 2013.** Adaptation of the AOAC 2011.25 Integrated total dietary fiber assay to determine the dietary fiber and oligosaccharide content of dry edible beans. *Journal and Agricultural of Food Chemistry* 61: 9719-9726.
- Lacalle A. 2007.** Antioxidantes en alimentación: diferentes formas de expresar su actividad antioxidante. Tipos de unidades y métodos de análisis. Neiker Tecnalia: Barceloa, España, 24.
- Laparra J. M. S., Glahn R. P. and Miller D. D. 2008.** Bioaccessibility of phenols in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and iron (Fe) availability to Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 10999-11005.
- Lépiz I. R., López Alcocer J. J., Sánchez González J. J., Santacruz-Ruvalcaba F., Nuño Romero R. y Rodríguez Guzmán, E. 2010.** Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33: 21-28.
- Lin L. Z., Harnly J. M., Pastor-Corrales M. S. and Luthria D. L. 2008.** The polyphenolic profiles of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* 107: 399-410.
- Linné C. 1753.** *Species plantarum* :exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Holmiae : Impensis Laurentii Salvii 1-572.
- López-Alcocer J. D. J., Lépiz-Ildelfonso R., González-Eguiarte D. R., Rodríguez-Macías R. y López-Alcocer E. 2016.** Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. Silvestre de la región occidente de México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39: 49-58.

- Luthria D. L. and Pastor-Corrales M. A. 2006.** Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 205-211.
- Martínez-Valverde I., Periago M. J., Santaella M. and Ros G. 2000.** The content and nutritional significance of minerals on fish flesh in the presence and absence of bone. *Food Chemistry* 71: 503-509.
- Madhujith T., Naczk M. and Shahidi F. 2004.** Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Lipids* 11: 220-233.
- McGuire R.G. 1992.** Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27:1254-1260.
- Mojica L., Meyer A., Berhow M. A. and Gonzalez de Mejia E. 2015.** Bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) have similar high antioxidant capacity, in vitro inhibition of α -amylase and α glucosidase while diverse phenolic composition and concentration. *Food Research International* 69: 38-48.
- Mora-Rochin S., Gutiérrez-Urbe J. A., Serna-Saldívar S. O., Sánchez-Peña P., Reyes-Moreno C. and Milán-Carrillo J. 2010.** Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking. *Journal of Cereal Science* 52: 502-508.
- Moreno-Jiménez M. R., Cervantes-Cardoza V., Gallegos-Infante J. A., González-Laredo R. F., Estrella I., García-Gasca T. J., Herrera-Carrera E., Díaz-Rivas J. O. and Rocha-Guzmán N. E., 2014.** Phenolic composition changes of processed common beans: their antioxidant and anti-inflammatory effects in intestinal cancer cells. *Food Research International* 76: 79-85.

- Mujica M.V., Granito M. and Soto N. 2012.** Variación de los compuestos fenólicos de *Phaseolus vulgaris* L. durante el almacenamiento y su relación con el endurecimiento. BIAGRO 24: 163-174.
- Nordberg J. and Arnér E. S. J. 2001.** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biology and Medicine 31: 1287-1312.
- Oomah B. D., Cardador-Martínez A. and Loarca-Piña G. 2005.** Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L). Journal of the Science of Food and Agriculture 85: 935-942.
- Oomah B. D., Corbé A. and Balasubramanian P., 2010.** Antioxidant Anti-inflammatory Activities of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Hulls. Journal of agricultural and Food Chemistry 58: 8225-8230.
- Prolla I. R. D., Barbosa R. G., Veeck A. P. L., Augusti P. R., Silva L. P. D., Ribeiro N. D. and Emanuelli T. 2010.** Cultivar, harvest year, and storage conditions affecting nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L. Food Science and Technology (Campinas) 30: 96-102.
- Ramírez-Jiménez A.K., Reynoso-Camacho R., Elizabeth Tejero M., León- Galván F. and Loarca-Piña G. 2015.** Potential role of bioactive compounds of *Phaseolus vulgaris* L. on lipid-lowering mechanisms. Food Research International 76: 92-104.
- Ramírez-Pérez A. R., Díaz-Ruiz R., Jacinto-Hernández C., Paredes- Sánchez J. A. and Garza García, R. 2012.** Diversidad de frijoles nativos de diferentes regiones del estado de Puebla. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 3: 467-480.

- Reyes-Bastidas M., Reyes-Fernández E. Z., López-Cervantes J., Milán-Carrillo J., Loarca-Piña G. F. and Reyes-Moreno C. 2010.** Physicochemical, nutritional and antioxidant properties of tempeh flour from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Science and Technology International* 16: 427-434.
- Reyes-Martínez A., Almaraz-Abarca N., Gallardo-Velázquez T., González- Elizondo M. D. S., Herrera-Arrieta Y., Pajarito-Ravelero A., Alanis-Bañuelos R. E. and Torres-Morán M. I. 2014.** Evaluation of foliar phenols of 25 Mexican varieties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as antioxidants and varietal markers. *Natural Product Research* 28: 2158-2162.
- Reynoso-Camacho R., Ríos Ugalde M. D C., Torres Pacheco I., Acosta Gallegos J. A., Palomino Salinas A. C., Ramos Gómez, M., González J. E. and Guzmán Maldonado S. H. 2007.** El consumo de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y su efecto sobre el cáncer de colon en ratas Sprague-Dawley. *Agricultura técnica en México* 33: 43-52.
- Rocha-Guzmán N. E., Herzog A., González- Laredo R. F., Ibarra-Peréz F. J., Zambrano-Galván G. and Gallegos-Infante J. A. 2007.** Antioxidant and antimutagenic activity of phenolic compounds in three different colour groups of common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris*) *Food Chemistry* 103: 521527.
- Romano A., Giosafatto C. V. L., Masi P. and Mariniello L. 2015.** Impact of dehulling on the physico-chemical properties and in vitro protein digestion of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) *Food & Function* 6: 1345.
- Romero-Arenas O., Damián-Huato M., Rivera-Tapia J., Báez-Simón A., Huerta-Lara M. and Cabrera-Huerta E. 2013.** The nutritional value of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and its importance for feeding of rural communities in Puebla, Mexico. *International Research Journal of Biological Sciences* 2: 59-65.

- Ruiz-Ruiz J. C. Dávila-Ortíz G., Chel-Guerrero L. A., Betancur-Ancona D. A. 2012.** Wet Fractionation of Hard-to-Cook Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seeds and Characterization of Protein, Starch and Fibre Fractions. Food Bioprocess Technology 5: 1531-1540.
- Salinas-Moreno Y., Rojas-Herrera L., Sosa-Montes E. y Pérez-Herrera P. 2005.** Composición de antocianinas en variedades de frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivadas En México. Agrociencia 39: 385-394.
- Sancho R. A. S., Pavan V. and Pastore G. M. 2015.** Effect of in vitro digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. Food Research International 76: 74-78.
- Seidu K. T., Osundahunsi O. F., Olaleye M. T. and Oluwalana I. B. 2015.** Amino acid composition, mineral contents and protein solubility of some lima bean (*Phaseolus lunatus* L. Walp) seeds coat. Food Research International 73: 130-134.
- SIAP-SAGARPA. 2014.** Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola por estado del frijol, *Phaseolus vulgaris*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (Disponible en línea en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>) (Consulta 28 de Febrero de 2015).
- SIAP-SAGARPA. 2015.** Servicio de información agroalimentaria y pesquera. Frijol, *Phaseolus vulgaris*. Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. (Disponible en línea en: <http://www.siap.gob.mx/frijol/>) (Consulta: 10 de Mayo de 2015).
- Singh S., Debouck D. and Gepts P. 1989.** Razas de frijol común *Phaseolus vulgaris* L. Temas actuales en mejoramiento genético del frijol común. Documento de Trabajo, 47.

- Singh S. P., Gepts P. and Debouck D. G. 1991.** Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, *Fabaceae*). *Economic Botany* 45: 379-396.
- Singleton V. L. and Rossi J. A. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Shipp J. and Abdel-Aal S. M. 2010.** Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. *The Open Food Science Journal* 4: 7-22.
- Solano-Cervantes F. R., Díaz-Ruiz C. Jacinto-Hernández L. Aguirre-Álvarez y Huerta-de-la-Peña A. 2009.** Prácticas agrícolas, descripción morfológica, proteínica y culinaria del grano de cultivares de frijol sembrados en la región de Tlatzala, Guerrero. *Ra Ximhai* 5:187-199.
- Somporn C., Kamtuo A., Theerakulpisut P. and Siriamornpun S. 2011.** Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *International Journal of Food Science & Technology* 46: 2287-2296.
- Tae Joung H., Myoung-Hee L., Chang-Hwan P., Suk-Bok P., Kang-Bo S., Jong-Min K., Sang-Ouk S., In-Youl B. and Keum-Yong P. 2010.** Identification and Characterization of Anthocyanins in Yard-Long Beans (*Vigna unguiculata* ssp. *sesquipedalis* L.) by High-Performance Liquid chromatography with diode array detection and electrospray Ionization/mass spectrometry (HPLC-DAD-ESI/MS) Analysis. *Journal and Agricultural of Food Chemistry* 58: 2571-2576.

Taiz L. and Zeiger E. 2006. Fisiología vegetal. Metabolitos secundarios y defensa en las plantas. Volumen 1 Capítulo 13. pp. 551. (Disponible en línea en: https://books.google.com.mx/books?id=7QIbYgOC5AC&pg=PA551&lpg=PA551&dq=fisiologia+vegetal+antocianinas&surce=bl&ots=niqRYX1Bzj&sig=VToiLW37Fy8DsZWuChbqDa_c&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwi8v8TUtkXJAhXGGT4KHZYXDBgQ6AEIJDAB#v=onepage&q=fisiologia%20vegetal%20antocianinas&f=false) (Consulta: 3 de Mayo de 2015).

Tsao R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2: 1231-1246.

Ulloa J. A., Rosas-Ulloa P.R., Ramírez-Ramírez J. C. y Ulloa Rangel B. E. 2011. El frijol (*Phaseolus vulgaris*): su importancia nutricional y como fuente de fitoquímicos. *Revista Fuente* ISSN 2007-0713.

Vargas-Vázquez M., Muruaga-Martínez L. P., Pérez-Herrera J. S., Gill-Langarica P., Esquivel-Esquivel H. R., Martínez-Damián G., Rosales-Serna M. A., Mayek-Pérez R. & Netzahualcoyotl. 2008. Caracterización morfo agronómica de la colección núcleo de la forma cultivada de frijol común del INIFAP, *Agrociencia* 42: 787-797.

Voysest O. 2000. Mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris L.*): legado de variedades de América Latina CIAT 1930-1999:

Wood D. and Lenne J. M. 1997. The conservation of agrobiodiversity on-farm: questioning the emerging paradigm. *Biodiversity and Conservation* 6: 109-129.

Wong D. W. S. 2006. Feruloyl esterase: a key enzyme in biomass degradation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 133: 87-112.

- Wrolstad R. E. 1976.** Color and pigment analyses in fruit products. Oregon State University Agricultural Experiment. Station Bulletin 624: 1-17.
- Wu G. 2013.** Functional amino acids in nutrition and health. *Amino Acids* 45: 407-411.
- Xu B. and Chang S. K. C. 2009.** Total phenolic, phenolic acid, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 4754-4764.
- Xu B. and Chang S. K. 2012.** Comparative study on antiproliferation properties and cellular antioxidant activities of commonly consumed food legumes against nine human cancer cell lines. *Food Chemistry* 134: 1287-1296.
- Zhang X., Blair M. W and Wang S. 2008.** Genetic diversity of Chinese common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces assessed with simple sequence repeat markers. *Theoretical and Applied Genetics* 17: 629-640.
- Zhishen J., Mengcheng T. and Jianming W. 1999.** The determination of flavonoids contents in mulberry and their scavenging effects in superoxide radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.

10. APENDICE

Cuadro A 1 Georreferencias de 54 poblaciones de frijol nativo de acuerdo a la región de origen.

Población	Municipio	Localidad	Latitud	Longitud	altitud
POB-02	Miahuatlán de Porfirio Díaz	Agua de Sol	16°28'24"	96°43'55"	1505
POB-03	Taniche	Taniche	16°33'57"	96°45'11"	1426
POB-04	Taniche	Taniche	16°33'57"	96°45'11"	1426
POB-05	San Agustín Amatengo	San Agustín Amatengo	16°30'37"	96°47'21"	1361
POB-06	San Agustín Amatengo	San Agustín Amatengo	16°30'37"	96°47'21"	1361
POB-08	Magdalena Jaltepec	Morelos	17°17'23"	97°16'59"	2055
POB-09	Ánimas Trujano	Ánimas Trujano	16°59'18"	96°42'46"	1518
POB-11	San Juan Tamazola	Yucuxina	17°12'28"	97°11'54"	2083
POB-13	San Juan Tamazola	Yucuxina	17°12'28"	97°11'54"	2083
POB-17	Magdalena Jaltepec	San Miguel	17°18'34"	97°14'49"	2040
POB-18	Magdalena Jaltepec	San Miguel	17°18'34"	97°14'49"	2040
POB-19	Santo Domingo Yanhuitlán	Tooxi	17°33'25"	97°22'56"	2406
POB-20	Santiago Tlazoyaltepec	Cañada de Yukcimil	17°00'31"	96°58'34"	2477
POB-22	Santiago Tlazoyaltepec	Cañada de Yukcimil	17°00'31"	96°58'34"	2477
POB-23	Santiago Tlazoyaltepec	Río San Juan	17°01'07"	96°59'25"	2225
POB-26	Santiago Tlazoyaltepec	El Gachupín	17°00'28"	96°57'51"	2681
POB-28	Santiago Tlazoyaltepec	La Unión	17°02'15"	96°59'44"	2458
POB-29	Ixtlán de Juárez	Santa María Yahuiche	17°18'00"	96°28'53"	1836
POB-30	Santiago Laxopa	Santiago Laxopa	17°13'01"	96°18'40"	1942
POB-31	Santiago Laxopa	Santiago Laxopa	17°13'01"	96°18'40"	1942
POB-32	San Juan Evangelista Analco	San Juan Evangelista Analco	17°24'24"	96°32'20"	2065

Continuación (Cuadro A 1)

POB-33	San Juan Evangelista Analco	San Juan Evangelista Analco	17°24'24"	96°32'20"	2065
POB-34	Santiago Xiacuí	San Andrés Yatuni	17°15'06"	96°24'11"	2337
POB-35	Santiago Laxopa	Santiago Laxopa	17°13'01"	96°18'40"	1942
POB-39	Reyes Etna	Reyes Etna	17°12'18"	96°48'37"	1643
POB-40	San Juan Bautista Guelache	San Gabriel Etna	17°12'58"	96°46'00"	1822
POB-41	San Juan Bautista Guelache	San Gabriel Etna	17°12'58"	96°46'00"	1822
POB-43	Santa María Tlahuitoltepec	Santa María Tlahuitoltepec	17°05'35"	96°03'52"	2239
POB-44	Santa María Tlahuitoltepec	Santa María Tlahuitoltepec	17°05'35"	96°03'52"	2239
POB-46	San Pedro y San Pablo Ayutla	San Pedro y San Pablo Ayutla	17°01'32"	96°04'48"	2040
POB-48	San Simón Almolongas	La Estancia	16°26'04"	96°41'26"	1516
POB-49	Heroica Ciudad de Ejutla de Crespo	Barranca Larga	16°29'30"	96°44'10"	1528
POB-50	Miahuatlán de Porfirio Díaz	San Pedro Amatlán	16°19'39"	96°26'57"	1566
POB-51	Santa Cruz Xitla	Santa Cruz Xitla	16°19'17"	96°40'20"	1804
POB-52	Santa Cruz Xitla	Santa Cruz Xitla	16°19'17"	96°40'20"	1804
POB-54	Santa Catarina Cuixtla	Santa Catarina Cuixtla	16°18'16"	96°38'43"	1791
POB-55	Santa Catarina Cuixtla	Santa Catarina Cuixtla	16°18'16"	96°38'43"	1791
POB-56	Miahuatlán de Porfirio Díaz	San Miguel Yogovana	16°16'53"	96°37'58"	1758
POB-57	San Agustín Amatengo	San Agustín Amatengo	16°30'37"	96°47'21"	1361
POB-58	San Juan Tamazola	Yucuxina	17°12'28"	97°11'54"	2083
POB-59	San Juan Tamazola	Yucuxina	17°12'28"	97°11'54"	2083
POB-61	San Juan Tamazola	Yucuxina	17°12'28"	97°11'54"	2083
POB-62	Villa de Tamazulápam del Progreso	Río del Oro	17°41'41"	97°36'41"	1894
POB-63	Villa Tejúpam de la Unión	Yodobada	17°37'16"	97°26'18"	2247
POB-64	Silacayoápam	Santiago Asunción	17°31'05"	98°01'47"	1921
POB-65	Silacayoápam	Santiago Asunción	17°31'05"	98°01'47"	1921
POB-66	Silacayoápam	Santiago Asunción	17°31'05"	98°01'47"	1921
POB-67	Silacayoápam	Santiago Asunción	17°31'05"	98°01'47"	1921

Continuación (cuadro A 1)					
POB-68	Silacayoápam	Santiago Asunción	17°31'05"	98°01'47"	1921
POB-69	Santiago Juxtlahuaca	Santa María Yucunicoco	17°14'15"	97°55'08"	2458
POB-71	Santiago Juxtlahuaca	Santo Domingo del Progreso	17°17'57"	97°55'51"	2684
POB-72	Santiago Juxtlahuaca	Tinuma de Zaragoza	17°20'34"	97°54'26"	2356
POB-74	Santiago Juxtlahuaca	Santa María Yucunicoco	17°14'15"	97°55'08"	2458
POB-76	San Sebastián Tecomaxtlahuaca	Santa Cruz Rancho Viejo	17°23'51"	98°03'08"	1869
N. TROPICAL	-	-	-	-	-



Figura A 1. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.



Figura A 2. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.

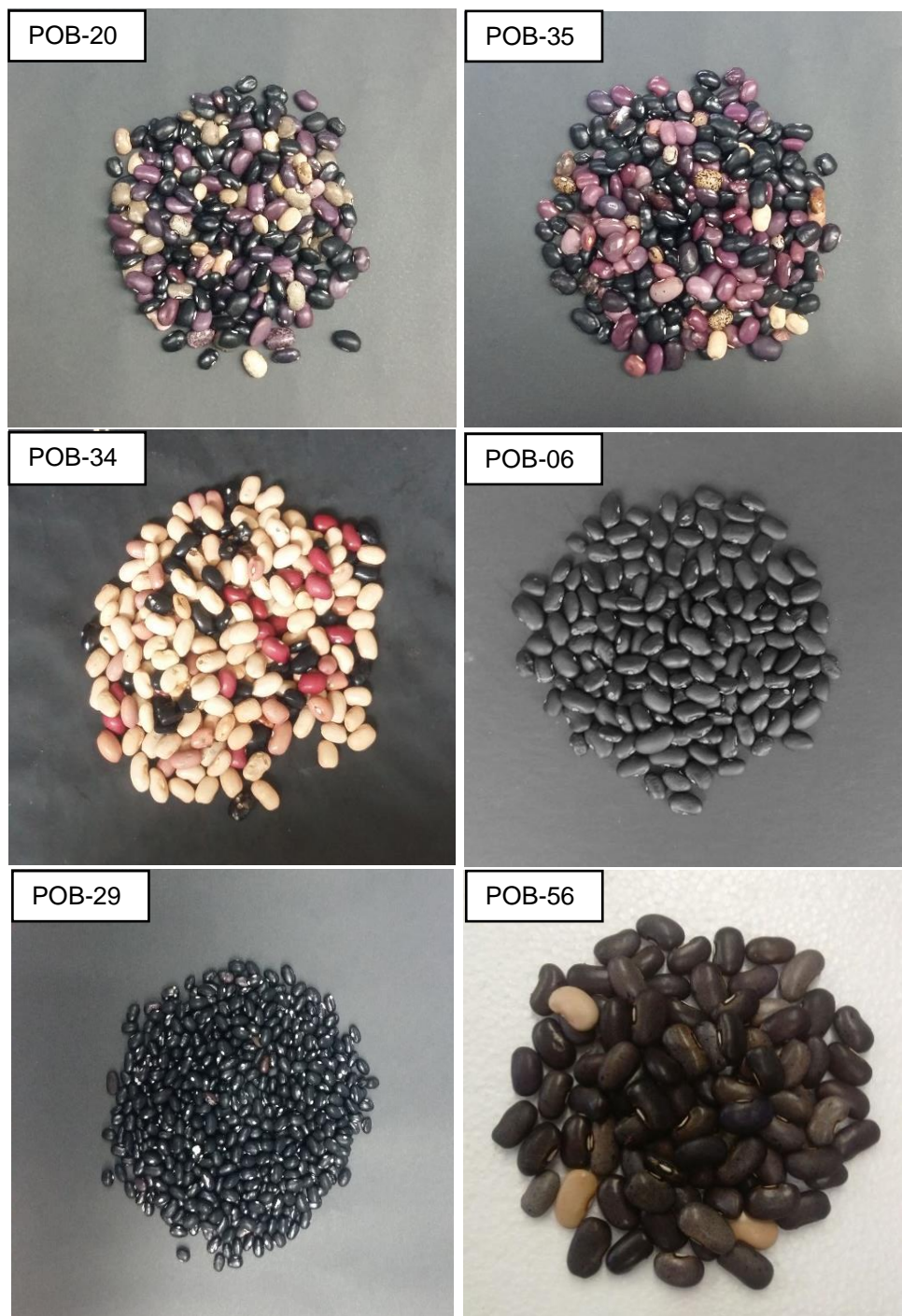


Figura A 3. Variabilidad de color en las muestras de frijol nativo.

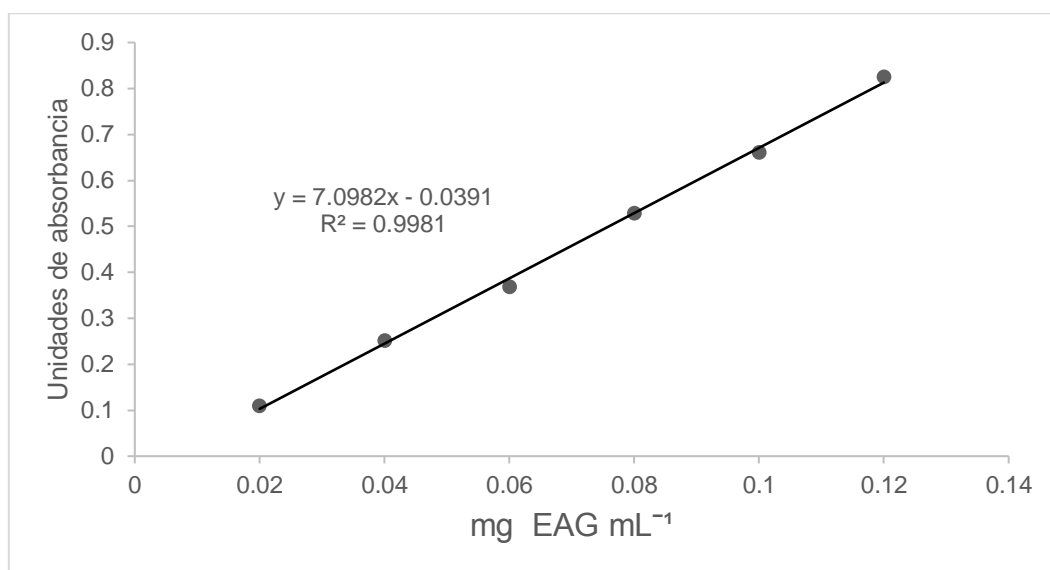


Figura A 4. Curva estándar para la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).

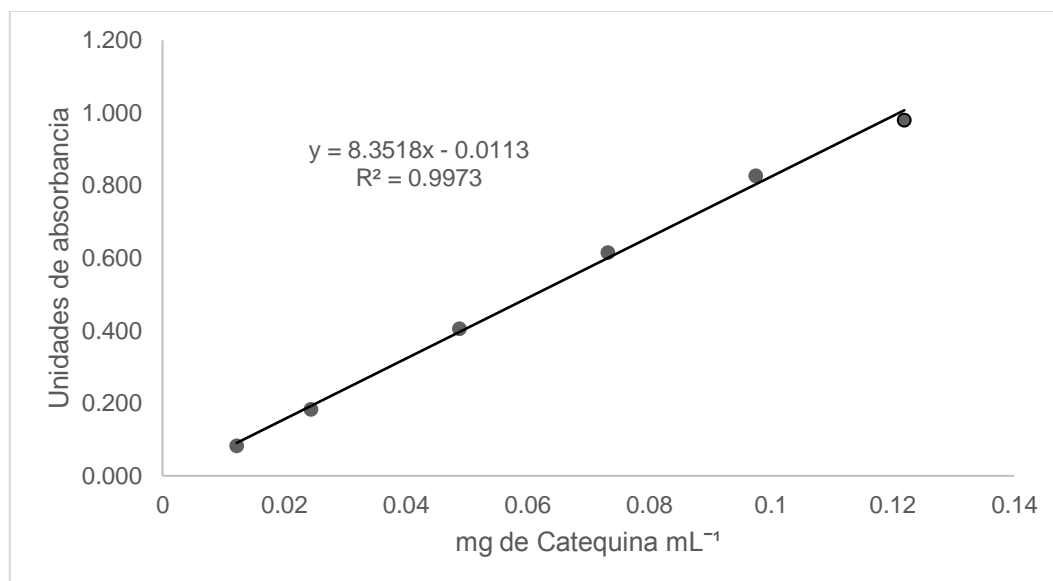


Figura A 5. Curva estándar para la cuantificación de flavonoides por el método $AlCl_3$ (Zhishen *et al.*, 1999).

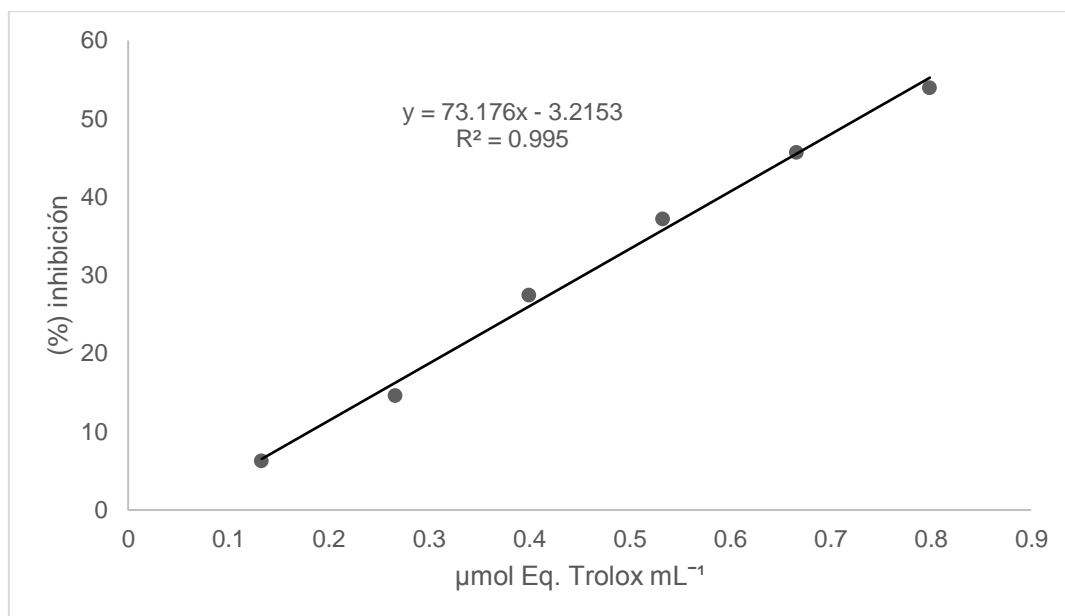


Figura A 6. Curva estándar para la determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

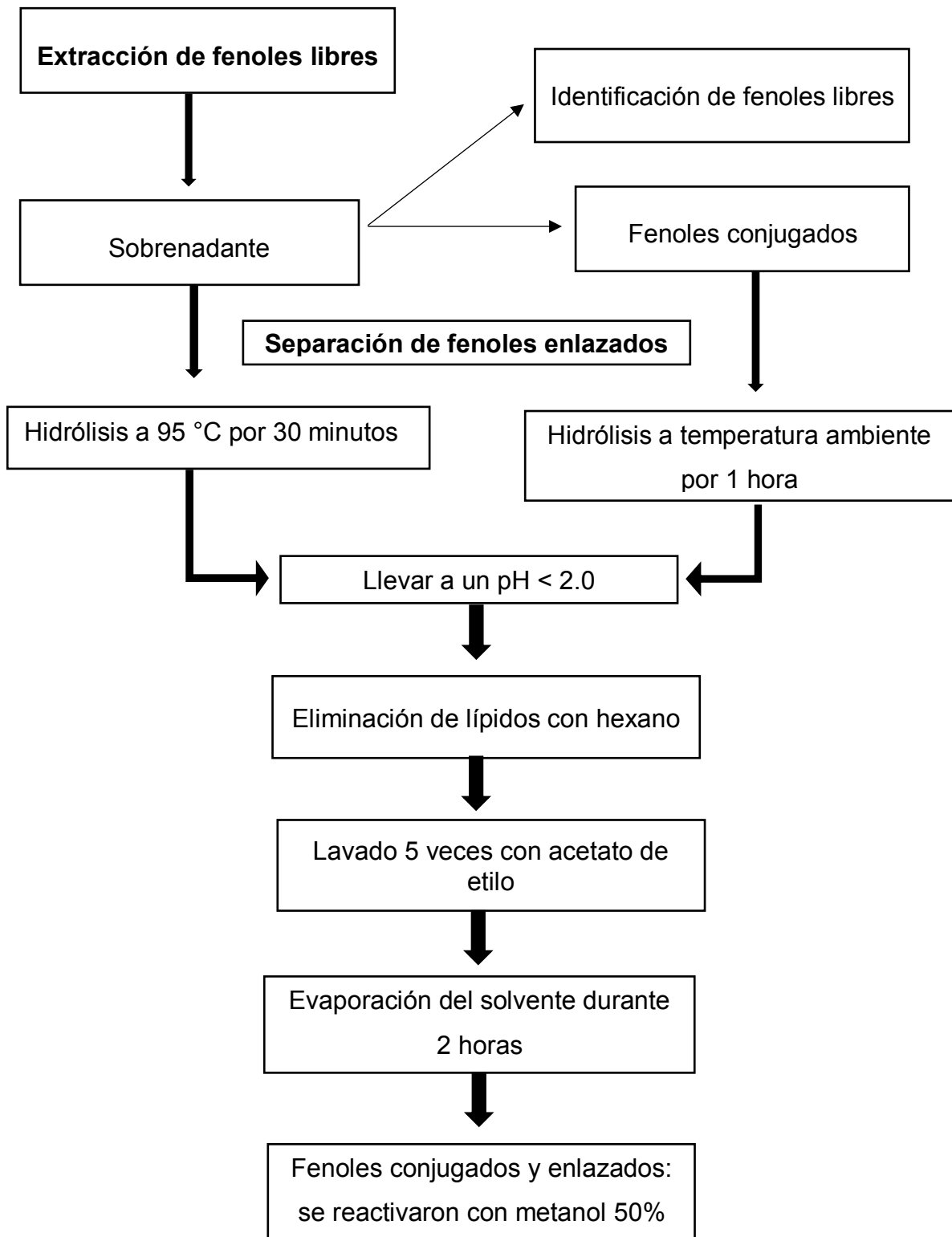


Figura A 7. Esquema de trabajo para la obtención de extractos fenólicos

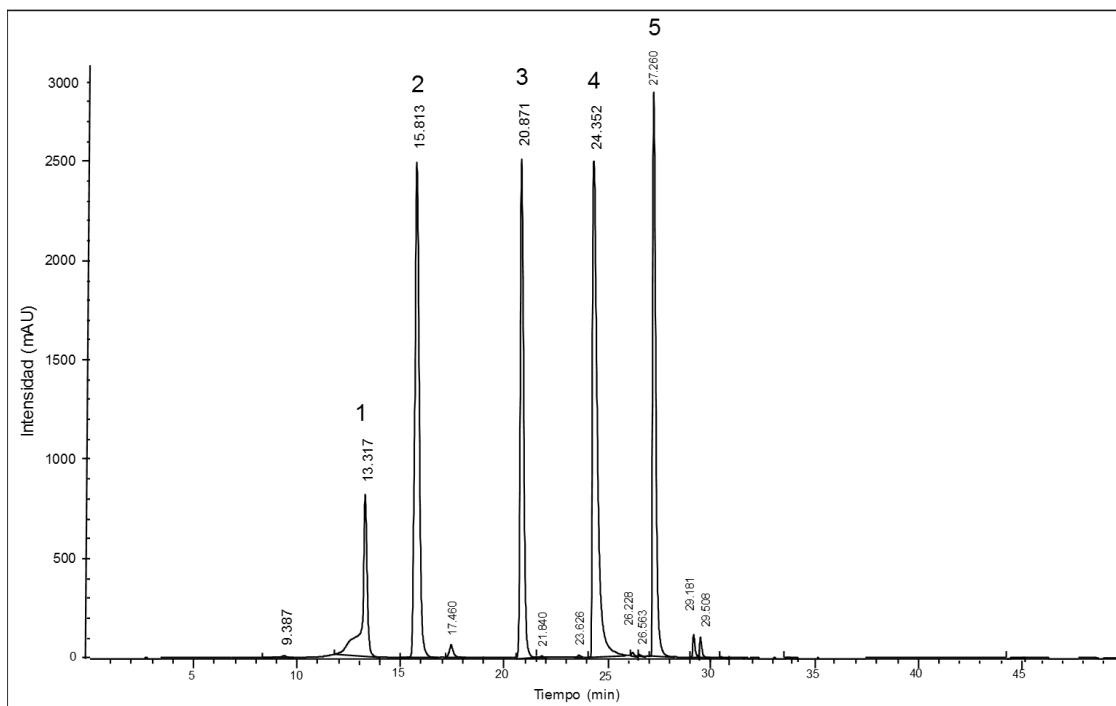


Figura A 8. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a estándares de compuestos fenólicos, catequina (1), ácido vanílico (2), ácido ferúlico (3), ácido elágico (4) y quercetina (5).

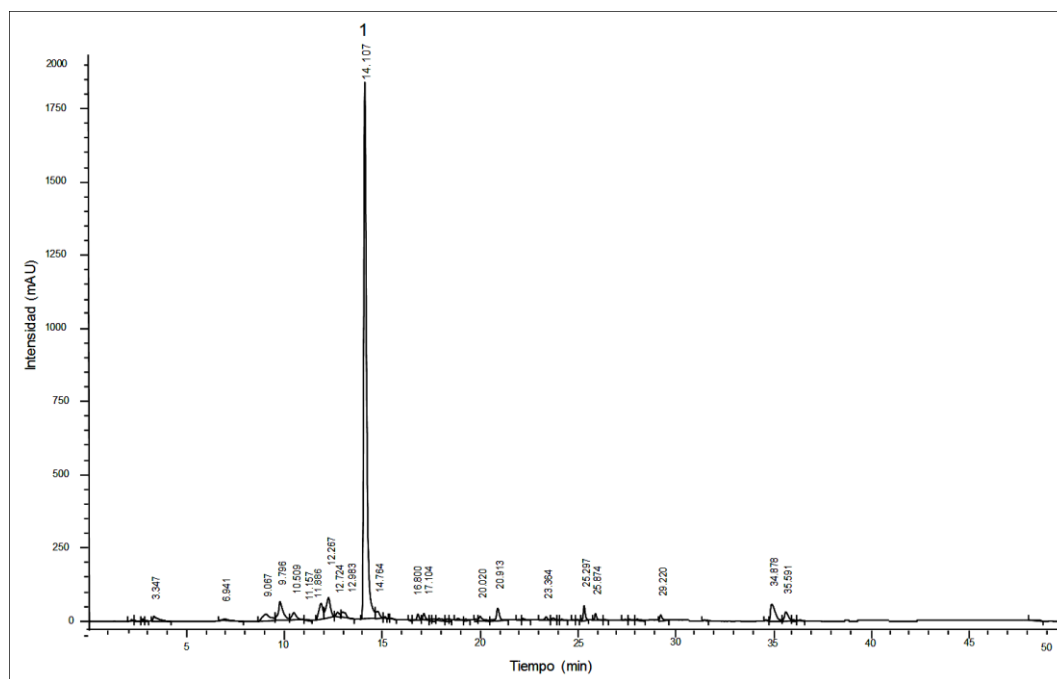


Figura A 9. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles libres de la variedad comercial flor de mayo, ácido clorogénico (1).

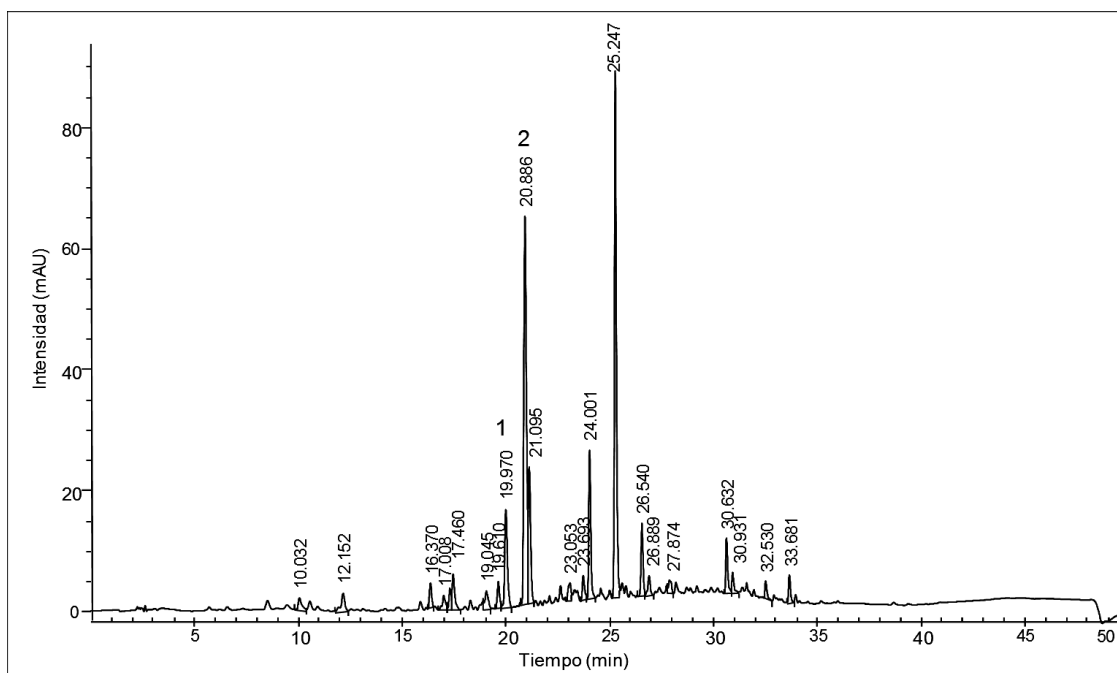


Figura A 10. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles enlazados de la población 64, ácido *p*-cumárico (1), ácido ferúlico (2).

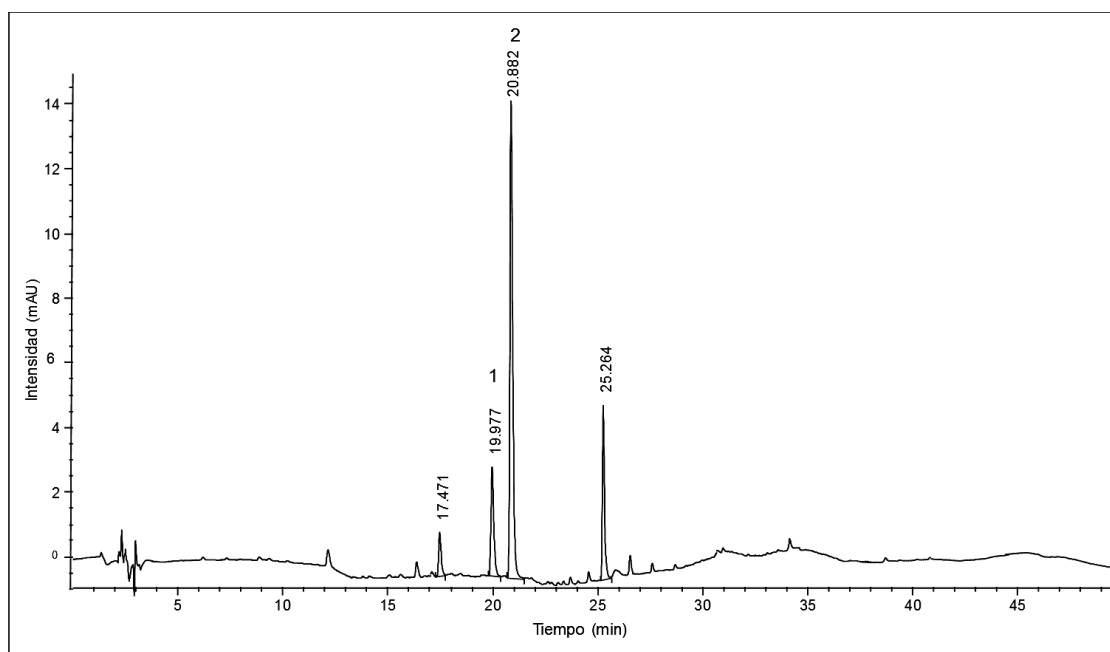


Figura A 11. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante RP-HPLC correspondiente a fenoles conjugados de la población 17, ácido *p*-cumárico (1), ácido ferúlico (2).

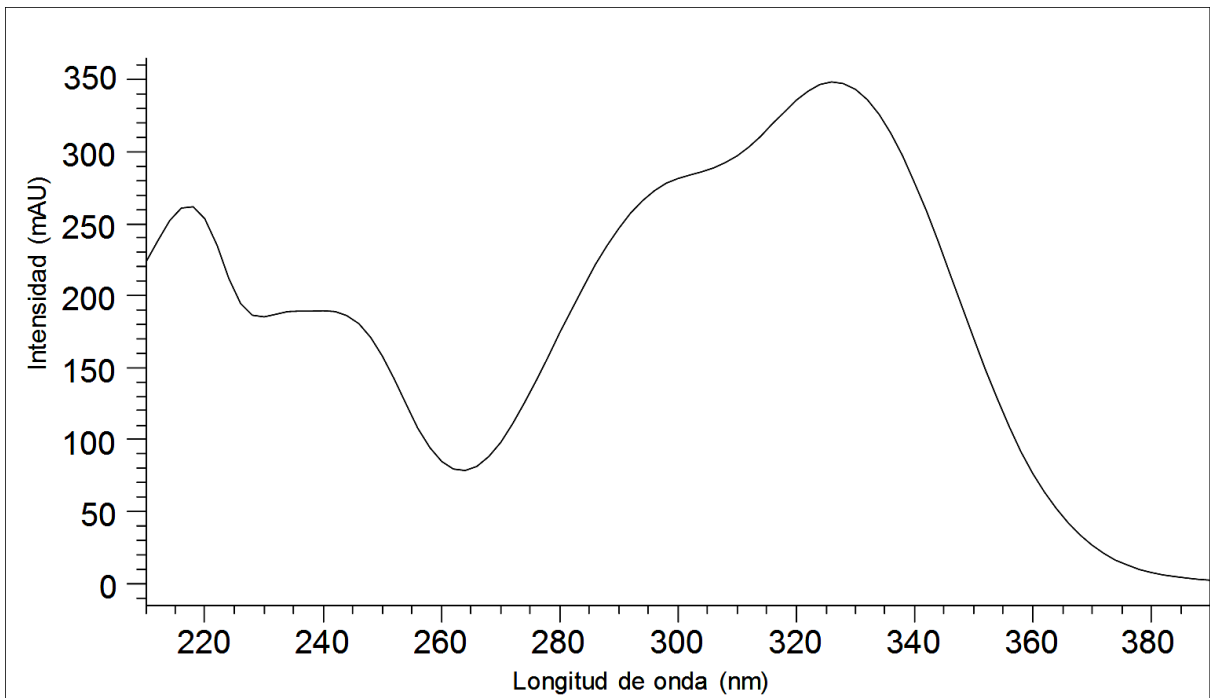


Figura A 12. Espectro de absorbancia del ácido clorogénico.

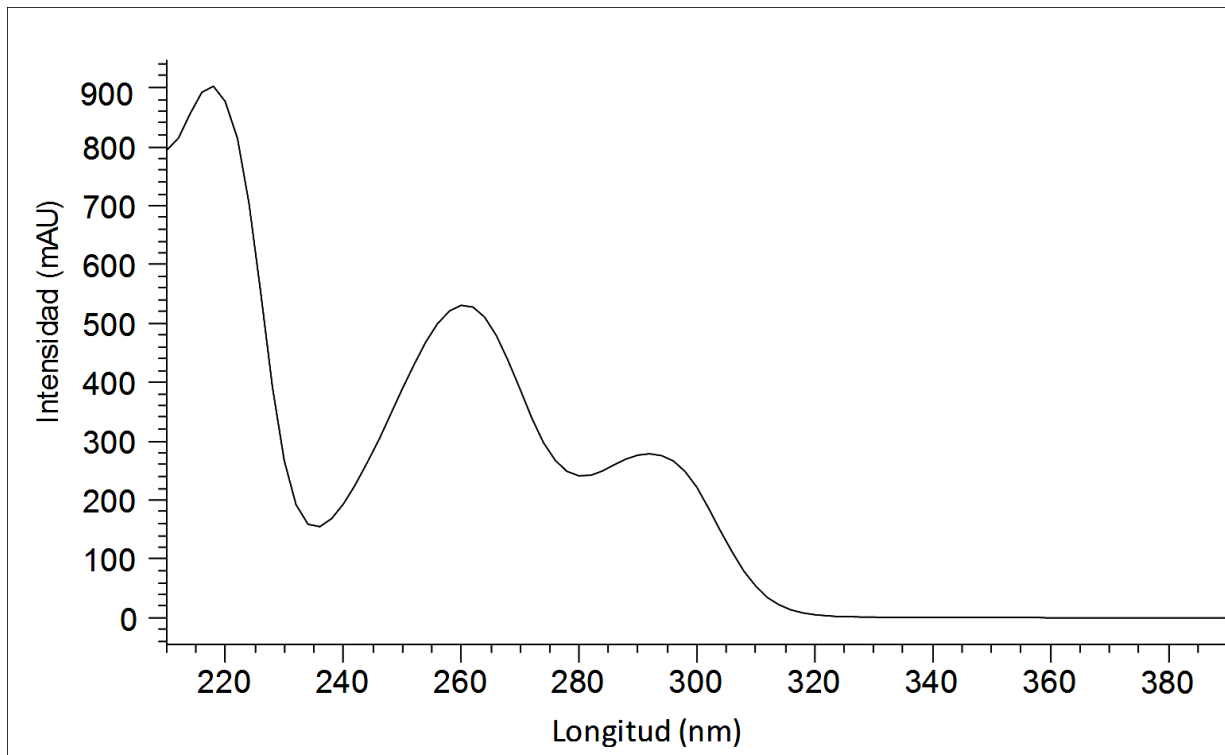


Figura A 13. Espectro de absorbancia del ácido vanílico.

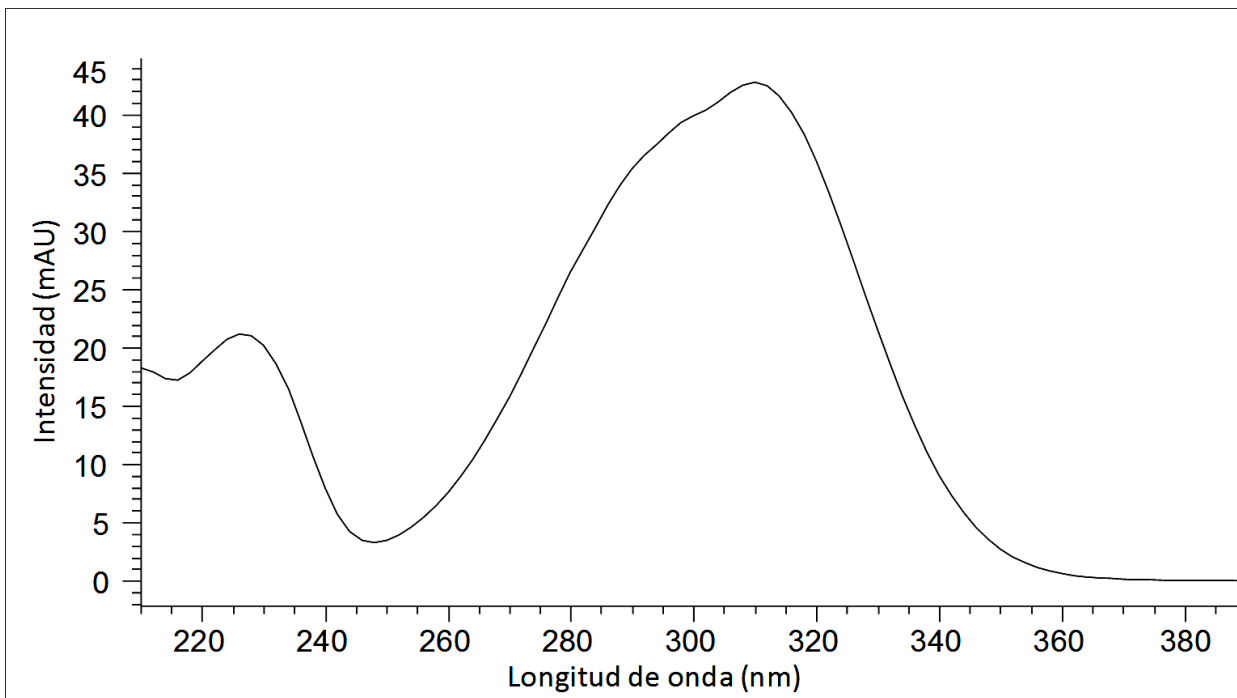


Figura A 14. Espectro de absorbancia del ácido *p*-cumárico.

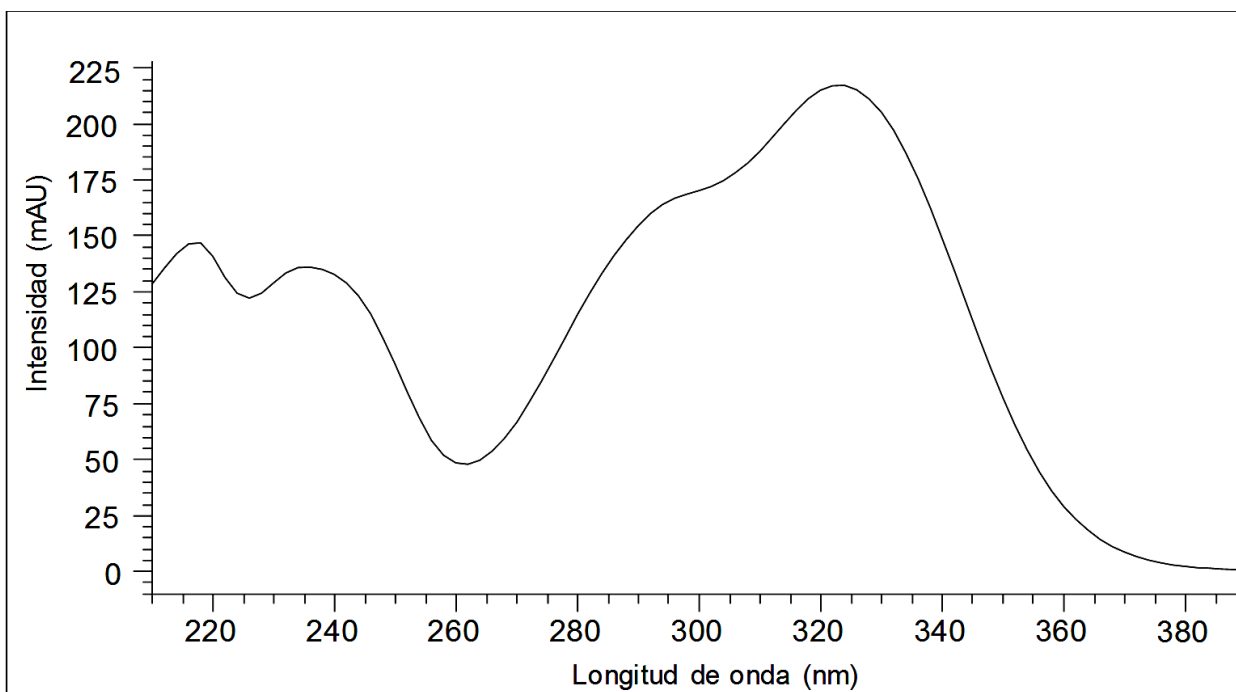


Figura A 15. Espectro de absorbancia del ácido ferúlico.

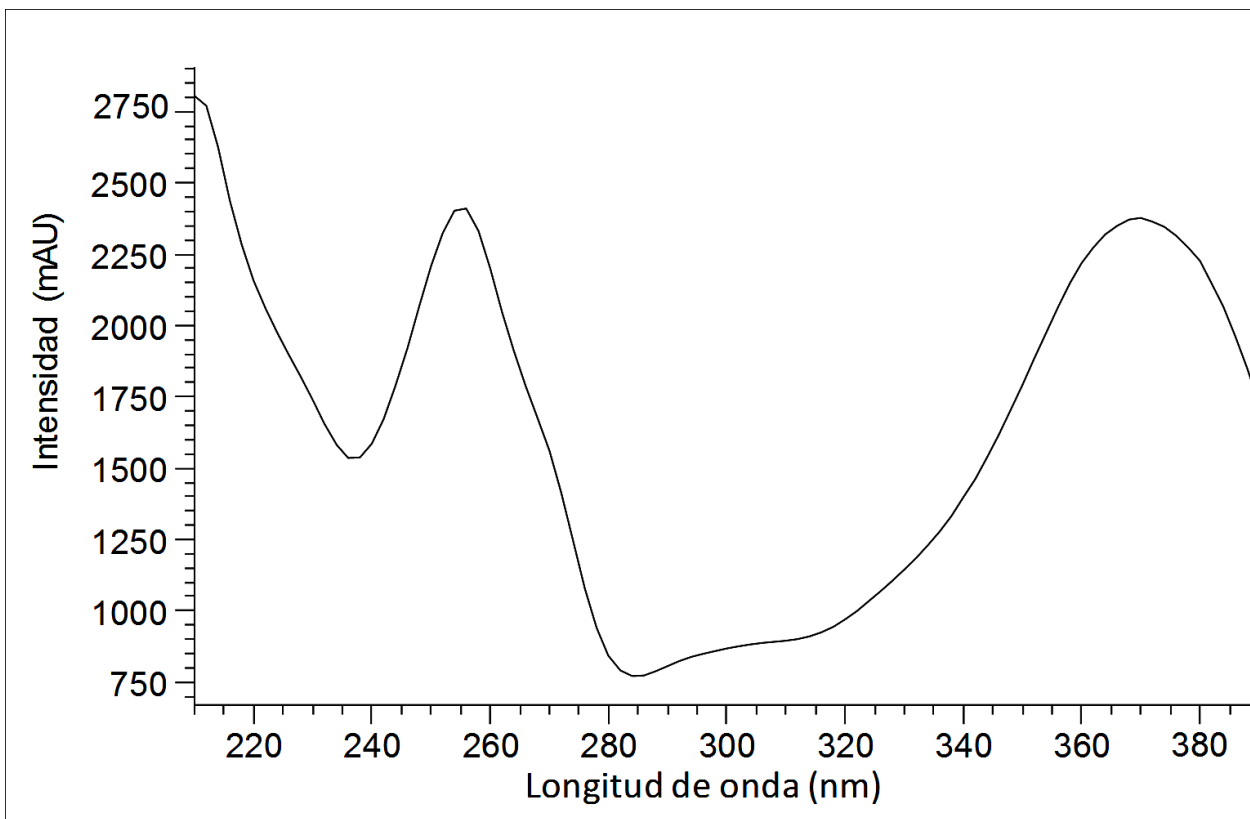


Figura A 16. Espectro de absorbancia de quercetina.

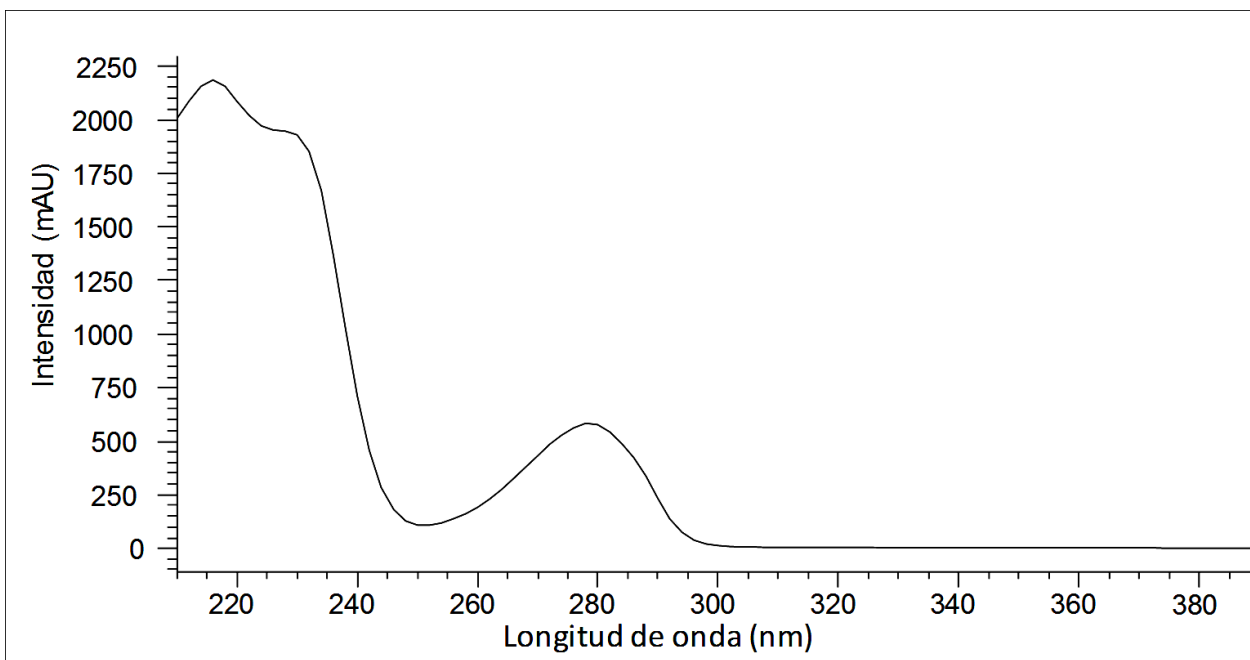


Figura A 17. Espectro de absorbancia de catequina.

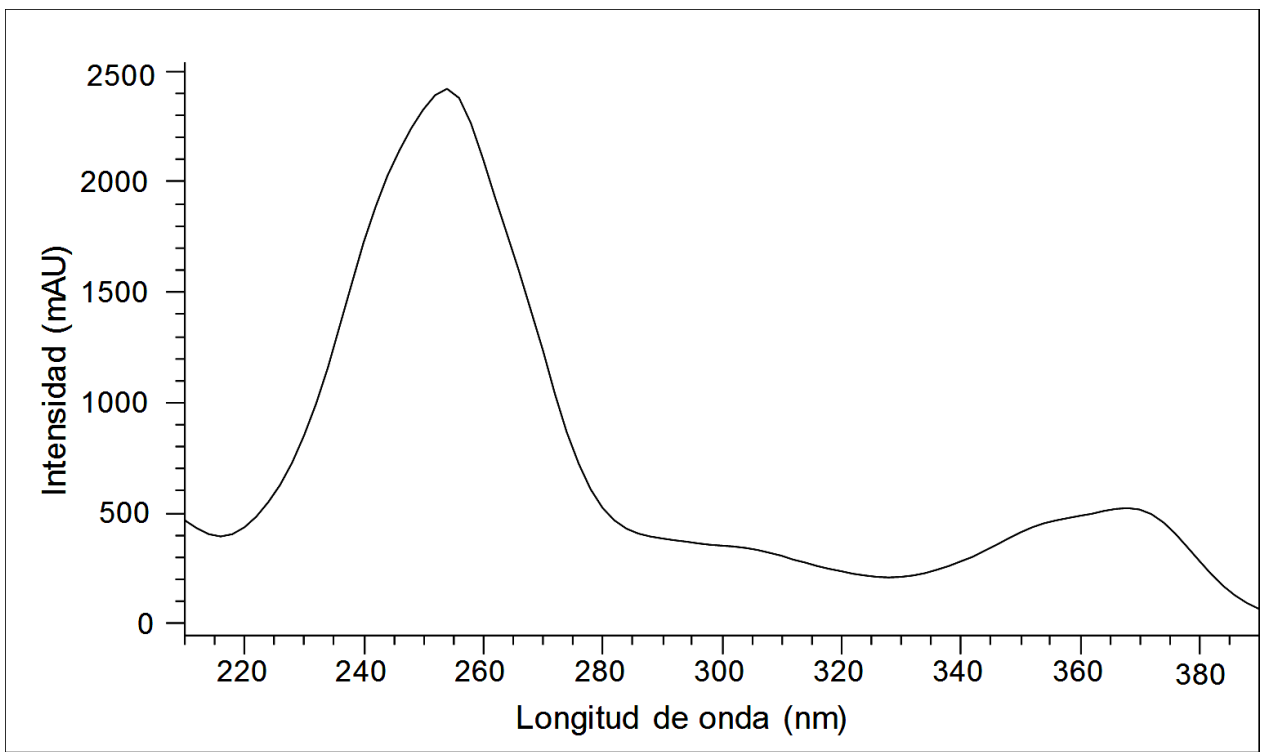


Figura A 18. Espectro de absorbancia del ácido elágico.

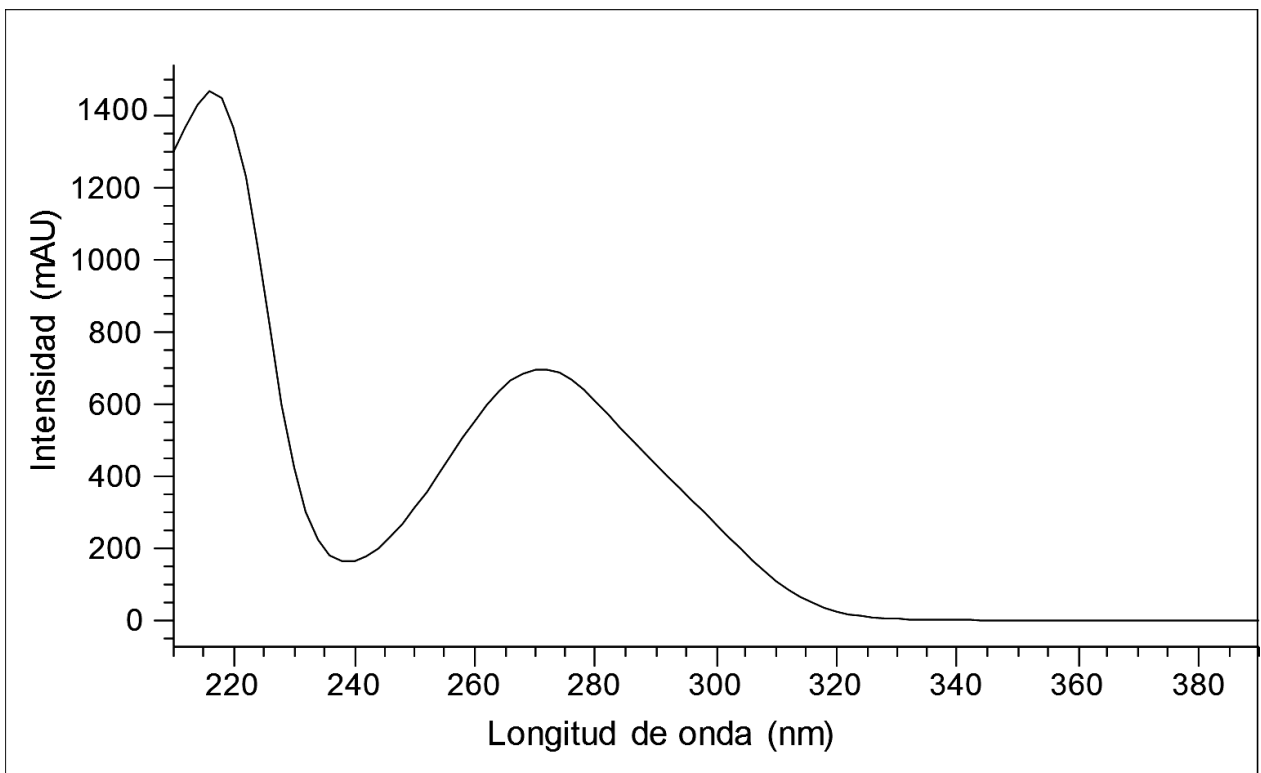


Figura A 19. Espectro de absorbancia del ácido gálico.