

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Ciencias y Humanidades

ELIMINACIÓN DE L-DOPA EN EL FRIJOL
TERCIOPELO NEGRO *Mucuna pruriens* (L.) Y SU
POTENCIAL COMO ALIMENTO PARA EL SER
HUMANO

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Guatemala, 2004

ELIMINACIÓN DE L-DOPA EN EL FRIJOL
TERCIOPELO NEGRO *Mucuna pruriens* (L.) Y SU
POTENCIAL COMO ALIMENTO PARA EL SER
HUMANO

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Ciencias y Humanidades

ELIMINACIÓN DE L-DOPA EN EL FRIJOL TERCIOPELO NEGRO *Mucuna pruriens* (L.) Y SU POTENCIAL COMO ALIMENTO PARA EL SER HUMANO

Trabajo de investigación presentado para optar al grado
académico de Licenciatura en Ingeniería y Ciencia de Alimentos,
por Carmen Luz García Echeverría

BIBLIOTECA
DE LA
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Guatemala, 2004

Vo.Bo.:

(f) *Ricardo Bressani*
Doctor Ricardo Bressani

Tribunal:

(f) *Ricardo Bressani*
Doctor Ricardo Bressani

(f) *Patricia Palacios de Palomo*
Licenciada Patricia Palacios de Palomo

(f) *Ana Silvia Colmenares de Ruiz*
Licenciada Ana Silvia Colmenares de Ruiz

15 ENE. 2004

Dedicatoria

A Jesucristo mi Salvador

A mis Padres:

Ing. Ricardo Antonio García Martínez

Licda. Lilia Luz Echeverría de García

A mis Abuelitos:

Lic. Adán René Echeverría Magariño (QEPD)

Licda. Clara Luz Guevara de Echeverría

A mis Hermanos:

Br. Ricardo Adán García Echeverría

Br. Lilia Elena García Echeverría

A mis Tías y Tíos:

Adán Leonel, Mario René y Patricia, Edgar Augusto y Lourdes, Ronald David y Eugenia, Fulvio Erick (QEPD) y Mayra, Luis Ernesto y Estela.

A mis Primas y Primos

Agradecimientos

Le doy las gracias primero a Dios nuestro Señor por lograr llevar a término este trabajo.

Les agradezco a mis padres por su gran apoyo y ayuda durante todo el tiempo que me llevó realizar mi tesis.

Asimismo, le agradezco a mi asesor de tesis, Doctor Ricardo Bressani, su colaboración en este trabajo.

Agradezco al señor Carlos Arias su valiosa ayuda en el laboratorio mientras realizaba el análisis experimental de mis muestras.

También le agradezco a la Licenciada Patricia de Palomo por el apoyo que me brindó durante todo el tiempo que estuve trabajando en este proyecto.

Y a Dennisse.

Carmen Luz García Echeverría

Índice

DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTOS.....	VI
ÍNDICE DE CUADROS.....	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	IX
RESUMEN.....	X
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
III. EFECTO DE LA COCCIÓN ÁCIDA Y ALCALINA SOBRE LA ELIMINACIÓN DE L-DOPA EN FRIJOL MUCUNA.....	11
A. JUSTIFICACIÓN.....	11
B. OBJETIVOS.....	11
C. HIPÓTESIS.....	11
D. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
E. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
F. RESULTADOS.....	18
G. DISCUSIÓN.....	24
IV. TAMAÑO DEL GRANO Y RETENCIÓN DE L-DOPA DURANTE LA COCCIÓN.....	29
A. JUSTIFICACIÓN.....	29
B. OBJETIVOS.....	29
C. HIPÓTESIS.....	29
D. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
E. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	31
F. RESULTADOS.....	32
G. DISCUSIÓN.....	37
V. CONCLUSIONES.....	39
A. PRIMER ESTUDIO.....	39
B. SEGUNDO ESTUDIO.....	39
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	40
VII. APÉNDICE.....	42

Índice de cuadros

Cuadro 1. Procesos de cocción (Primer tratamiento)	12
Cuadro 2. Equipo utilizado	14
Cuadro 3. Método para L-Dopa (Szabo y Tebbett, 2002)	16
Cuadro 4. Método para micro kjeldahl (AOAC, 1984)	16
Cuadro 5. Contenido de L-Dopa y proteína	18
Cuadro 6. Miligramos de L-Dopa por mililitro en el líquido de cocción	18
Cuadro 7. Porcentaje de sólidos del líquido de cocción	19
Cuadro 8. Contenido de L-Dopa de la fase sólida después del segundo tratamiento	19
Cuadro 9. Contenido de proteína de la fase sólida después del segundo tratamiento	20
Cuadro 10. Porcentaje de disminución final de L-Dopa (100%=6.0875% de L-Dopa)	20
Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al tiempo de ebullición en el segundo tratamiento	21
Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al contenido de sólidos del líquido de cocción	21
Cuadro 13. Muestras originales	30
Cuadro 14. Características de las muestras crudas	32
Cuadro 15. Contenido de L-Dopa de las muestras antes del tratamiento	32
Cuadro 16. Contenido de L-Dopa de las muestras después del tratamiento	33
Cuadro 17. Coeficientes de correlación de Pearson para el contenido de L-Dopa frente a peso por semilla y el contenido de L-Dopa frente a tamaño de la semilla	33

Índice de gráficas

Gráfica 1.	12
Gráfica 2. Esquema de la investigación	15
Gráfica 3. Regresión lineal para la muestra Control 2, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida)	22
Gráfica 4. Regresión lineal para la muestra Vapor, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida)	22
Gráfica 5. Regresión lineal para la muestra Ca(OH)_2 pH9 , porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida)	22
Gráfica 6. Regresión lineal para la muestra KOH pH11, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida)	22
Gráfica 7.	30
Gráfica 8. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra A	34
Gráfica 9. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra B	34
Gráfica 10. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra C	35
Gráfica 11. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra A	35
Gráfica 12. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra B	36
Gráfica 13. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra C	36
Gráfica 14. Regresión lineal entre la concentración de L-Dopa (base seca) antes y después del tratamiento	37

Resumen

El frijol terciopelo (*Mucuna pruriens* (L.)) puede funcionar como un excelente cultivo de cobertura, al sembrarlo en un sistema de rotación de cultivos con el maíz. También tiene una proteína (24-30%) de buena calidad (con un alto contenido de aminoácidos esenciales). Sin embargo, posee, además de los factores antinutricionales comunes a todos los frijoles, un alto contenido de L-Dopa (6-9%), sustancia tóxica utilizada para tratar la enfermedad de Parkinson.

Para aprovechar su contenido nutricional, es importante encontrar un método de extracción del L-Dopa que no afecte significativamente las cualidades nutricionales del frijol. En el presente estudio se realizaron varios ensayos para eliminar el L-Dopa, divididos en dos partes.

En la primera, se trató a la muestra, una sola variedad de frijol terciopelo negro, con un total de once tratamientos. Hubo dos cocciones en seco (microondas y vapor), y nueve en húmedo (hervor en agua a pH7, pH3, pH6, pH9 y pH11). En los tratamientos alcalinos se utilizaron tres diferentes bases: hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de potasio (KOH) e hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Estas muestras se secaron y se molieron. Se determinó tanto su contenido de L-Dopa como su proteína, y estos resultados se compararon con un control (frijol crudo molido).

Estas harinas fueron mezcladas con agua. Una muestra fue sólo mezclada con agua, otra hervida por tres minutos y otra hervida por seis minutos. Todos los tratamientos fueron trabajados por triplicado. Todas las muestras fueron secadas, y se les determinó otra vez el L-Dopa y la proteína. Se determinó que el tratamiento más efectivo fue hervir la muestra con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a pH9 por seis horas, secarla y molerla, y luego hervir la harina por seis minutos con agua. Sin embargo, ningún tratamiento fue capaz de eliminar el L-Dopa del todo.

En la segunda parte, se trataron tres variedades de frijol terciopelo, dos muestras de color negro (A y B) y una muestra de color beige (C). La muestra B era la misma tratada en la primera parte. Los frijoles de cada muestra fueron separados a mano según su tamaño, y fueron divididos en cuatro categorías arbitrarias (1, 2, 3 y 4), donde la categoría 1 era la de mayor tamaño.

Las muestras fueron puestas en remojo por 24 horas, luego se hirvieron tres veces en agua por 20 minutos cada vez. Se le determinó el L-Dopa tanto a las muestras sólidas como a las aguas de cocción y de remojo. En este estudio se determinó que el contenido de L-Dopa de la semilla de frijol *Mucuna* difiere según su tamaño, aunque no hay una correlación significativa entre tamaño y contenido de L-Dopa. Además, el tratamiento no afectó significativamente el contenido de L-Dopa de la muestra A, pero sí el de las muestras B y C.

I. INTRODUCCIÓN

El frijol terciopelo (*Mucuna* spp.) ha sido, desde hace años un buen cultivo de cobertura debido a su resistencia, a la gran cantidad de follaje que produce y a su capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico. Sin embargo, contiene una alta cantidad de L-Dopa, sustancia tóxica para el ser humano, hasta el punto de ser una fuente comercial de la misma (la L-Dopa se utiliza para tratar la enfermedad de Parkinson).

Los métodos tradicionales de preparación sólo permiten consumir cantidades relativamente pequeñas de la semilla (no tanto como puede consumirse de otros frijoles), lo cual lo hace impracticable como cultivo para consumo humano. Sin embargo, tiene una proteína (24-30%) de buena calidad (con una alta proporción de aminoácidos esenciales), por lo que se hace deseable aprovechar sus características nutricionales.

Actualmente, el frijol se utiliza como cultivo de rotación con el maíz en algunas partes del país. Si se pudiera consumir el frijol terciopelo, se podría impulsar su uso como abono verde y como alimento.

En este trabajo se investigan diversos tratamientos para eliminar la sustancia L-Dopa del frijol terciopelo, pero ninguno fue capaz de eliminarla del todo. El trabajo se realizó en dos fases diferentes.

En la primera fase se utilizaron sólo frijoles terciopelo negro y se aplicaron tratamientos como: microondas, cocción al vapor, cocción en agua, cocción ácida y cocción alcalina (con diferentes bases). Las semillas tratadas fueron secadas y molidas. Esta harina se coció nuevamente en agua.

En la segunda fase se compararon tres variedades de frijol terciopelo, dos negras (incluyendo la ya utilizada en la primera fase) y una beige. En esta fase se investigó incidencia del tamaño de la semilla en el contenido de L-Dopa de la misma.

II. ANTECEDENTES

El frijol terciopelo fue en un tiempo un cultivo de cobertura popular, se cultivó extensamente en los Estados Unidos de América a comienzos del siglo pasado y fue incluido en esa época en gran cantidad de programas de investigación en África, Asia y América Latina, con resultados variados. Ha sido cultivado con éxito durante más de 40 años por agricultores indígenas de Centroamérica (Buckles, et. al., 1998).

A. Orígenes y características botánicas del frijol terciopelo

El frijol terciopelo es una vigorosa leguminosa trepadora anual. Proviene originalmente del sur de China y el este de la India, donde fue en un tiempo cultivada ampliamente como hortaliza. El género *Mucuna*, perteneciente a la familia *Fabaceae*, abarca alrededor de 100 especies de leguminosas anuales y perennes, incluido el frijol terciopelo anual (Buckles, et. al., 1998).

La *Mucuna* se fertiliza a sí misma, por lo tanto, es rara la hibridación natural. Las especies mencionadas más comúnmente incluyen *M. deeringiana*, *M. utilis* (frijol terciopelo de Bengala), *M. pruriens*, *M. nivea*, *M. hassjoo* (frijol terciopelo de Yokohama), *M. aterrima* (frijol terciopelo de Mauricio y Borbón), *M. capitata* y *M. diabolica*. Sin embargo, algunas designaciones pueden ser sinónimas (Buckles, et. al., 1998).

Las principales diferencias entre las especies cultivadas son el tipo de pelos de la vaina, el color de la semilla y el número de días hasta la cosecha de la vaina. Hay tipos de *Mucuna* con largos pelos urticantes en la vaina, las cuales provocan dermatitis. Los tipos no urticantes, conocidos por el nombre común de "frijol terciopelo" tienen pelos sedosos aplanados. El frijol urticante puede ser el tipo original salvaje del género. Las semillas pueden ser de color negro brillante, blanco crema, gris, beige y moteadas. Los ciclos biológicos varían entre 100 y 300 días hasta la cosecha de la vaina. También se ha informado la existencia de una variedad no enredadera con escasa producción de follaje, que recibe el nombre de "frijol terciopelo en racimo" (Buckles, et. al., 1998).

La mayoría de las especies *Mucuna* presentan una relativa tolerancia a varios factores ambientales desfavorables, como sequía, escasa fertilidad y elevada acidez del suelo, aunque son sensibles a las heladas y se desarrollan deficientemente en los suelos húmedos y fríos. Se desarrollan mejor en condiciones de calor y humedad, por debajo de los 1500 m sobre el nivel del mar y en zonas con lluvia abundante. Como la mayoría de las leguminosas, el frijol terciopelo tiene la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico mediante una relación simbiótica con microorganismos del suelo, lo cual convierte a la planta en una fuente eficiente de nitrógeno (Buckles, et. al., 1998).

Las *Mucuna* spp. contienen los compuestos tóxicos L-Dopa, triptaminas alucinógenas, nicotina, fisostigmina, serotonina, bufotenina, N,N-dimetiltriptamina (Szabo y Tebbett, 2002) y otros factores antinutricionales tales como fenoles y taninos. Debido a las concentraciones elevadas de L-Dopa (7%), el frijol terciopelo es

una fuente comercial de esta sustancia, utilizada para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, la L-Dopa también puede producir un estado de confusión mental y trastornos intestinales en el ser humano (Buckles, et. al., 1998).

A pesar de sus propiedades tóxicas, varias especies de *Mucuna* se producen como cultivo alimentario secundario. Las semillas crudas de frijol terciopelo contienen alrededor de 27% de proteínas y son ricas en minerales (especialmente K, Mg, Ca y Fe). Durante los siglos XVIII y XIX, el *Mucuna* fue cultivado ampliamente como hortaliza en las estribaciones y los cerros más bajos del este de los Himalayas y en Mauricio. Se hervían y se comían tanto las vainas verdes como los frijoles maduros. En Guatemala y México, por al menos varios decenios la *M. pruriens* ha sido tostada y molida para obtener un sucedáneo del café; la semilla es muy conocida en la región como "Nescafé", en reconocimiento de ese uso (Buckles, et. al., 1998)

Los métodos de cocción tradicionales que se observan en África son poco económicos, debido a que en general se necesita hervir en agua las semillas por más de 8 horas (depende de si son frescas o secas), cambiando el agua de vez en cuando. En regiones donde la gente tiene pocos recursos, no se puede esperar que los gasten cocinando un solo producto (Gilbert, 2002). En la República de Guinea se han promocionado varias recetas, en las que el *Mucuna* se utiliza como un ingrediente (Diallo, et. al., 2002).

Es posible que debido a su toxicidad la planta tenga pocos problemas con plagas de insectos. También elimina gran parte de nematodos del suelo cuando se utiliza en rotación de cultivos, aunque algunos nematodos sí lo afectan. Su follaje ahoga a otras plantas competidoras. Sin embargo, puede alojar agentes patógenos transmitidos por el suelo, como el hongo *Macrophomina phaseolina*, que son nocivos para el maíz y otros cultivos alimentarios (Buckles, et. al., 1998). La oruga del frijol terciopelo *Anticarsia gemmatilis* se convirtió en una plaga para el cultivo de frijol terciopelo en EE.UU. a principios del siglo XX, eliminando gran parte de la cosecha alrededor de 1910 (Eilittá y Sollenberger, 2002).

La planta se ha cultivado por un tiempo como cultivo de mejora del suelo, para forraje y para combatir maleza. Un cultivo que se utiliza para recuperar la fertilidad del suelo es un cultivo de cobertura. El frijol terciopelo es un buen abono verde (Buckles, et. al., 1998).

En los EE.UU. el frijol terciopelo se utilizó por mucho tiempo como cultivo secundario en las áreas algodoneras. Su uso estaba altamente difundido debido a su bajo precio en comparación al precio de los abonos químicos entre el siglo XIX y el XX. Su uso fue introducido en esta época en varios países del tercer mundo. Sin embargo, su cultivo decayó con la disminución de los precios de abonos fabricados, cuyo uso es más sencillo que cultivar frijoles (Buckles, et. al., 1998).

B. Contenido nutricional del frijol terciopelo negro

El contenido de proteína del frijol *Mucuna* (23 a 35%) es similar al de otras leguminosas comestibles, como el frijol común (22%) o la soya (33.4%). En cuanto a la calidad de dicha proteína, su contenido de lisina (aminoácido esencial) también es

similar a la de las otras especies, y la cantidad de aminoácidos con azufre es también similar. Esto hace su proteína similar en calidad a las de otras leguminosas, rica en lisina, baja en aminoácidos con azufre (Bressani, 2002).

Al comparar su contenido de aminoácidos esenciales con el de la soya, se observan similitudes, y en algunos casos (como en el de la valina, isoleucina, tirocina y fenilalanina) su contenido es mayor al de la soya (Siddhuraju, et. al., 2000).

La proteína del frijol *Mucuna pruriens* está compuesta principalmente por globulinas y albuminas. El consumo de este frijol puede llenar los requerimientos de aminoácidos esenciales descritos por la FAO/WHO, excepto por los aminoácidos con azufre (Siddhuraju, et. al. 1996).

Con respecto a su contenido de minerales, es una fuente rica de potasio, y contiene niveles de fósforo, magnesio, zinc, y hierro comparables a los de otras legumbres (Siddhuraju, et. al., 2000).

No contiene gran cantidad de grasa (alrededor del 6%), aunque la grasa en sí es rica en ácidos grasos insaturados, como el ácido linoleico (Siddhuraju, et. al., 2000)(Siddhuraju, et. al., 1996).

También posee un contenido de fibra dietética similar al de otras leguminosas, como el frijol común. El contenido de fibra dietética del frijol común ayuda a reducir la concentración de colesterol en la sangre (Bressani, 2002). El contenido nutricional del frijol terciopelo es similar al de la soya (Ukachukwu, et. al., 2002).

Sin embargo, el *Mucuna* también posee los mismos factores antinutricionales de las demás leguminosas, como inhibidor de proteasa, inhibidor de amilasa, lectinas, ácido fítico, polifenoles, taninos, HCN y factores de flatulencia, en cantidades similares. El problema es que también contiene L-Dopa (6.97 a 9.16%), sustancia que comparte con otra leguminosa *Vicia faba* (1.5%). El contenido de L-Dopa lo hace particularmente tóxico (Bressani, 2002).

El contenido de proteína o carbohidratos de cualquier alimento no es importante si no se pueden aprovechar. La digestibilidad de la proteína de *Mucuna* es similar a la de otras leguminosas. La digestibilidad de los carbohidratos de las legumbres depende de su tamaño y de su grado de hidratación durante la cocción (Bressani, 2002).

C. El empleo del frijol terciopelo en Centroamérica

La planta probablemente fue introducida en Centroamérica como cultivo forrajero en los años 20 por la United Fruit Company, una empresa productora de bananas que poseía grandes extensiones de tierras a lo largo del litoral atlántico de América Central (Buckles, et. al., 1998).

El frijol terciopelo se utilizaba (en algunos lugares aún se utiliza) en rotación con el maíz tardío. El cultivo de frijol terciopelo maduro se cortaba con machete en noviembre y luego se sembraba el maíz en la capa de hojas y tallos de frijol terciopelo en descomposición. Después de la cosecha del maíz, el cultivo de frijol terciopelo se

restablecía mediante la resiembra natural o era sembrado de nueva cuenta por el agricultor, con lo cual continuaba indefinidamente la rotación. Estos agricultores también cultivaban maíz en un campo diferente durante la temporada de lluvias principal, usando roza y quema (Buckles, et. al., 1998).

El uso de este frijol en el valle del Polochic disminuyó debido al auge de la ganadería en la zona a finales de los años 70. Grandes cantidades de zonas de cultivo pasaron a ser alimento de ganado. Sin embargo, aún es utilizado en algunas partes del país como cultivo de rotación para el maíz. En algunos lugares se hace rotación de calabaza, maíz y frijol terciopelo (Buckles, et. al., 1998).

En Honduras se cultiva para mejorar el suelo, pero se utiliza poco en la alimentación, debido a su contenido de L-Dopa. Las personas del pueblo El Rosario, Comayagua, empezaron a hacer experimentos para aprovechar la semilla, apoyados por la organización World Neighbors, que impulsaba la introducción del *Mucuna* como cultivo de cobertura. La gente desarrolló varias formulaciones, como nutriharina, nutrichocolate, nutricafé, nutritortillas, nutritamalitos, etc., las cuales contenían harina hecha a partir de *Mucuna*. El programa se detuvo en la zona, por causa de diversos problemas, entre ellos, rumores de que la planta causaba cáncer y el hecho de que no se conocen los efectos de su consumo a largo plazo. Sin embargo, su aceptabilidad era mayor comparativamente que la de la soya, ya que ésta es muy difícil de cultivar y procesar, mientras que el *Mucuna* crece sin mucho esfuerzo (pero es tóxico) (Bunch, 2002).

D. Alimentación de animales con el frijol terciopelo

Durante la época de mayor uso del frijol terciopelo en EE.UU. (1870 a 1960) se realizaron diversas pruebas para determinar si éste era útil para alimentar a los animales domésticos. Entre estos usos se encuentran (Elittä y Sollenberg, 2002):

- Los granjeros dejaban que la primera helada matara las plantas de *Mucuna*, y luego permitían que los animales como vacas y cerdos se la comieran.
- Para alimentar al ganado en general (incluyendo las vacas lecheras), se les servía el grano entero o triturado, mezclado con otras semillas, como maíz.
- Se utilizaba también para fabricar heno, pero no se alimentaba a los animales con grandes cantidades del mismo.
- Al alimentar cerdos, se observaron efectos secundarios en los animales, por lo que no se les podía alimentar en grandes cantidades, pero se utilizó de forma muy extendida.
- Al alimentar caballos se observó que si se le administraba sólo frijol terciopelo, podía causar daños en los riñones, pero si el frijol sólo constituía un tercio de la dieta, era beneficioso.

E. Usos medicinales del frijol terciopelo

Un estudio clínico confirma la eficacia de las semillas en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson debido a su contenido de L-Dopa. La *Mucuna pruriens*, es reconocida como un afrodisíaco en la tradición hindú, y se ha comprobado que aumenta los niveles de testosterona, llevando a la deposición de proteínas en los músculos, incrementando su masa y fuerza. El extracto es conocido también por aumentar el estado de alerta del cerebro y mejora la coordinación (por esto se utiliza como sucedáneo del café) (Pretty, 2002).

En la India se utiliza tradicionalmente el frijol terciopelo para tratar algunos males comunes, como indigestión, cólera, diabetes, infertilidad, leucorrea, mordidas de escorpión o de serpiente, dolor de muelas, infestaciones con gusanos (tanto en personas como en animales) (Pretty, 2002).

F. Efectos de otros tratamientos en el contenido de L-Dopa

En un estudio realizado en la India sobre el efecto de los tratamientos tradicionales de la semilla antes de su consumo, se observó que ningún tratamiento eliminaba del todo la presencia de la sustancia (L-Dopa); sin embargo, la mayoría lograba reducir su cantidad hasta en un 60% (Siddhuraju y Becker, 2001).

En este estudio se utilizaron las semillas de la especie *Mucuna pruriens* variedad utilis, de variedades blanca y negra. Uno de los métodos más útiles en la eliminación de L-Dopa fue el de remojar las semillas en una solución de ácido cítrico (0.1%, pH 2.60) por 20 h y ya secas se las calentó en autoclave por 30 min (121°C, 15 lb de presión) (Siddhuraju y Becker, 2001).

Otros estudios han demostrado que un tratamiento con calor seco como tostar o asar la semilla puede disminuir el L-Dopa hasta en un 49%. Los métodos húmedos mejoran si la semilla se parte en pedazos, entre más pequeños, mayor extracción. Esto es por una mayor área superficial del frijol (con una eliminación del 95% del L-Dopa, mediante un tratamiento que dura alrededor de tres días) (Myhrman, 2002).

Un tratamiento muy eficaz para eliminar el L-Dopa de la semilla de *Mucuna* consiste en remojar por 24 horas las semillas trituradas en una solución de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Se logra una concentración final de menos de 0.1%. Pero el producto resultante es de un color quemado, no apto para el consumo humano, si bien puede utilizarse para alimentar pollos (Diallo, et. al., 2002).

Otros métodos utilizados para eliminar el L-Dopa no han tenido resultados aceptables. Entre estos se encuentran: cocer la semilla entera después de dejarla en remojo y germinar la semilla. En las semillas remojadas a 66°C se encontró que la velocidad a la que el L-Dopa sale de la semilla disminuye a medida que el tiempo de remojo aumenta, posiblemente por la interferencia de la gelatinización del almidón (Bressani, et. al., 2003).

El cocinar la semilla en agua después de remojarla por 12 horas disminuye su tiempo de cocción (y mejora la digestibilidad de la proteína), sobre todo si se la remoja en una solución de bicarbonato de sodio, pero no disminuye significativamente el contenido de L-Dopa. Germinar la semilla antes de consumirla no mejora la calidad de la proteína y no disminuye significativamente el contenido de L-Dopa (Bressani, et. al., 2003).

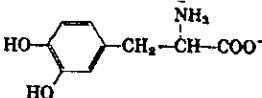
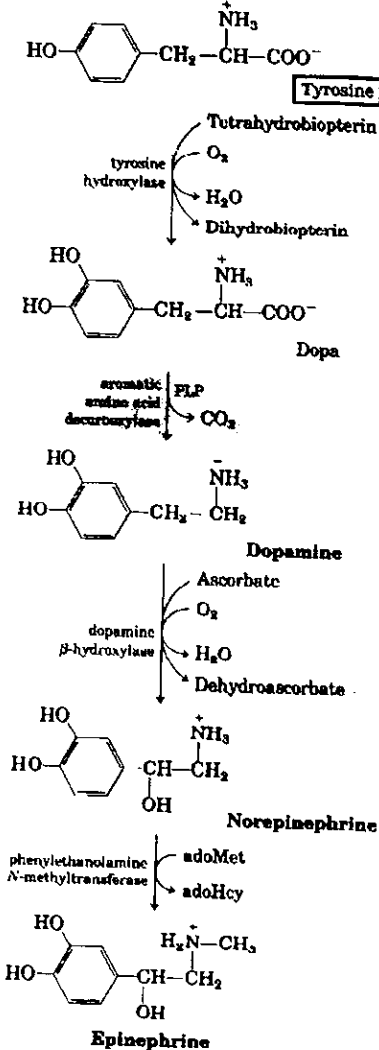
G. Extracción de L-DOPA

Como las variedades del género *Mucuna* tienen una alta concentración de L-Dopa, y, además, son la única variedad de plantas que contiene suficiente como para pensar en su extracción con fines comerciales, encontrar un método de extracción útil es importante. Un estudio indica que la extracción con agua caliente a partir de la semilla cruda molida del frijol terciopelo es un método útil. Además, en este estudio también se terminó de extraer con una solución ácida (HCl 0.1N) de la muestra después de los lavados previos, y el L-Dopa se separó con una resina de intercambio iónico. Este método, sin embargo, es un procedimiento de laboratorio, no siempre se pueden dar tres lavados de agua hirviendo, y seguro esto afecta las demás propiedades de la semilla. Cabe recordar que el objetivo de este estudio en particular era aislar y purificar el L-Dopa, no emplear la semilla como alimento humano (Daxenbichler, et. al., 1972).

H. Características del L-DOPA

Nombre completo	L-3,4-dihidroxifenilalanina
Fórmula molecular	$C_9H_{11}NO_4$
CAS No	59-92-7
Masa molecular	197 g/mol
Punto de fusión	285.5°C
Otras propiedades	Se pone verde en soluciones acuosas, se oscurece al aire. Al combinarse con $FeCl_3$ se pone verde. Reduce el $AgNO_3$, el NH_3 y el $KMnO_4$ ácido.
Dónde se encuentra	Semillas de <i>Vicia faba</i> , <i>Mucuna pruriens</i> y otras especies de frijol terciopelo.

(Buckingham, 1982).

Estructura	 <p>3,4-Dihydroxyphenylalanine (dopa)</p>
Proceso metabólico	 <p>Tyrosine</p> <p>Tyrosine hydroxylase</p> <p>Tetrahydrobiopterin</p> <p>O_2</p> <p>H_2O</p> <p>Dihydrobiopterin</p> <p>Dopa</p> <p>aromatic amino acid decarboxylase</p> <p>PLP</p> <p>CO_2</p> <p>Dopamine</p> <p>dopamine β-hydroxylase</p> <p>Ascorbate</p> <p>O_2</p> <p>H_2O</p> <p>Dehydroascorbate</p> <p>Norepinephrine</p> <p>phenylethanolamine N-methyltransferase</p> <p>adoMet</p> <p>adoHcy</p> <p>Epinephrine</p>

(Lehninger, et. al., 1993).

I. Metabolismo del L-Dopa

El L-Dopa se sintetiza a partir del aminoácido esencial tirosina, como parte del proceso de producción de los neurotransmisores dopamina, norepinefrina y epinefrina. Estos neurotransmisores pertenecen a la familia de las catecolaminas. Las catecolaminas están relacionadas con los cambios en la presión sanguínea (entre otras cosas). Como la enfermedad de Parkinson está relacionada con una producción pobre de dopamina, se trata con la administración de L-Dopa, su precursor inmediato. Una sobreproducción de dopamina está relacionada con desórdenes como la esquizofrenia (Lehninger, et. al., 1993).

El L-Dopa empezó a utilizarse alrededor de los años 60 para tratar el mal de Parkinson, después que se descubrió que la carencia de dopamina en ciertas partes del cerebro era una característica de las personas que padecen esta enfermedad. Su uso sólo afecta los síntomas de esta enfermedad, pero no disminuye su avance y causa efectos secundarios desagradables (náusea, vómitos, mareos). El cuerpo la convierte rápidamente en dopamina, por lo que se suministra en combinación con otras sustancias (carbidopa o bencerasina) a fin de disminuir la dosis necesaria (Hutton, 1989).

Alrededor del 33% del L-Dopa que se ingiere es absorbido por el sistema digestivo. La mayor concentración en el plasma sanguíneo se presenta entre 1 y 3 horas después del consumo (depende del individuo). La mayor parte del L-Dopa se convierte en dopamina en la periferia del cuerpo (cualquier parte del cuerpo, sin incluir el cerebro) por la acción de la enzima L-decarboxilasa de aminoácidos aromáticos (LAAD). Menos del 1% ingresa al cerebro para convertirse en dopamina en los ganglios basales. Además de la dopamina, el L-dopa se utiliza para formar melanina, norepinefrina, ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético. Estos compuestos se eliminan por la orina (Szabo y Tebbett, 2002).

Por su rápido metabolismo, el L-Dopa tiene poco efecto en sí mismo, pero incrementa la presencia de dopamina en el organismo. La mayor parte de los efectos secundarios son por el exceso de dopamina y su función como regulador del corazón, el sistema vascular, el tracto gastrointestinal y el sistema excretor, además del cerebro. Las personas con antecedentes de glaucoma, asma, psicosis, úlceras pépticas, epilepsia, diabetes y problemas cardiacos, renales, hepáticos o pulmonares deben evitar su consumo, ya que esto puede aumentar sus problemas (Szabo y Tebbett, 2002).

Los síntomas que se presentan por su consumo incluyen: Náusea, vómitos, anorexia, disturbios psicológicos como nerviosismo, ansiedad, agitación, insomnio, sueños vívidos, confusión, delirio e incluso alucinaciones. El L-Dopa puede transmitirse a la leche, por lo que las madres que den de mamar o las mujeres embarazadas deben evitarlo (Szabo y Tebbett, 2002).

En la planta *Mucuna*, el L-Dopa parece ser una protección contra pestes y enfermedades, a las que la planta es muy resistente, sin embargo, existen algunas que sí la afectan. Otra teoría sugiere que el L-Dopa provee al embrión de la planta con una alta concentración de nitrógeno (se ha observado que el L-Dopa disminuye al germinar la semilla) (Eilittä, et. al., 2002).

Según diversas pruebas para eliminar el L-Dopa realizadas con frijoles *Mucuna*, parece ser que el L-Dopa no se encuentra ligado a la proteína del frijol, ya que se remueve con agua, aunque los tratamientos para lograrlo suelen ser muy largos (hasta 96 horas de remojo en agua a 66°C) (Bressani, et. al., 2003).

III. EFECTO DE LA COCCIÓN ÁCIDA Y ALCALINA SOBRE LA ELIMINACIÓN DE L-DOPA EN FRIJOL MUCUNA.

A. JUSTIFICACIÓN

En la población de Guatemala existe un alto nivel de desnutrición, por el elevado índice de pobreza presente. Por esto se hace indispensable encontrar alimentos de alto valor nutritivo para la población. De allí que se justifica plenamente investigar la posibilidad de aprovechar como alimento humano, una planta que actualmente se cultiva sólo para mejorar el suelo.

Cultivar el frijol terciopelo negro es útil para enriquecer el suelo agotado por la siembra de maíz; sin embargo, no son muchas las personas en Guatemala que se toman el trabajo de cultivar una planta que luego no podrán consumir, sólo con el fin de mejorar su cosecha.

Si el frijol terciopelo negro pudiese consumirse en grandes cantidades, el cultivarlo se convertiría en una actividad provechosa en sí misma. Por lo tanto, el investigar la posibilidad de eliminar la sustancia que lo hace peligroso para la salud (L-Dopa), es muy importante para fomentar el uso de esta planta como abono orgánico y como alimento.

B. OBJETIVOS

1. General. Establecer un método que elimine la L-DOPA del frijol terciopelo sin comprometer sus cualidades nutricionales.

2. Específicos.

- Realizar pruebas de eliminación de la sustancia L-DOPA mediante cocción en medio ácido y alcalino, empleando iones de sodio, calcio y potasio, así como también cocción con vapor y en microondas.
- Determinar el contenido de proteína y sólidos de los productos del proceso de extracción del L-DOPA.

C. HIPÓTESIS

1. De investigación. Es posible eliminar completamente el L-Dopa del frijol terciopelo negro por métodos tecnológicos tales como los enunciados en el primer objetivo específico, dejando una harina útil para el consumo humano.

2. Nula. No es posible eliminar totalmente el contenido de L-Dopa del frijol terciopelo por métodos tecnológicos tales como los enunciados en el primer objetivo específico, sin comprometer sus cualidades nutricionales.

D. MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra inicial consistió en semillas de frijol *Mucuna pruriens* de color negro, suministradas por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Guatemala (ICTA).

Los métodos para tratar las muestras tienen la forma general de la Gráfica 1. La diferencia básica es el proceso de cocción que se aplica como primer tratamiento a las muestras.

Cuadro 1. Procesos de cocción (Primer tratamiento).

# Método	Proceso de cocción
1	Control, no hay método de cocción
2	Cocción al vapor (30min a 121°C)
3	Cocción por microondas (1 min)
4	Cocción en agua, 6h, pH 7.0
5	Cocción en agua, 6h, pH 9.0 con Ca(OH) ₂
6	Cocción en agua, 6h, pH 11.0 con Ca(OH) ₂
7	Cocción en agua, 6h, pH 9.0 con KOH
8	Cocción en agua, 6h, pH 11.0 con KOH
9	Cocción en agua, 6h, pH 9.0 con NaOH
10	Cocción en agua, 6h, pH 11.0 con NaOH
11	Cocción en agua, 6h, pH 3.0
12	Cocción en agua, 6h, pH 6.0

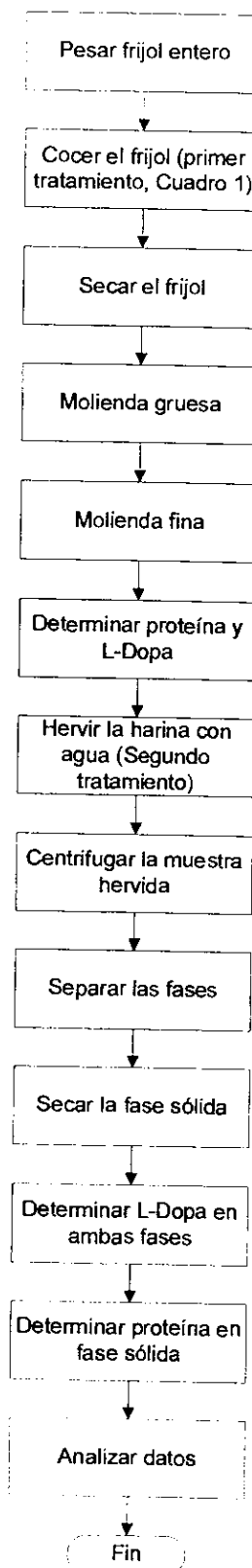
Los valores de pH fueron elegidos al azar, 2 pH ácidos y 2 pH básicos, tratando de mejorar la solubilidad del L-Dopa para facilitar su extracción. En el pH básico, se examinó la influencia de los iones de Na, K y Ca. También se estudió el efecto de tratamientos físicos como el calentamiento con vapor y por microondas. Se aplicaron 12 diferentes métodos incluyendo el control (Cuadro 1)

Se realizó un análisis con respecto al contenido de L-Dopa en el frijol terciopelo crudo (Control). También se analizó el contenido de proteína del frijol (método Kjeldahl).

Una vez realizados los primeros tratamientos, las muestras se secaron, pesaron y pulverizaron, con lo que se obtuvo cierta cantidad de harina de cada muestra (el control sólo fue molido)

El segundo tratamiento consistió en hervir las muestras de harina durante ciertos intervalos de tiempo (0, 3, y 6 minutos) Después se determinó el L-Dopa presente tanto en el extracto

Gráfica 1



como en la harina ya seca.

Para evaluar la pérdida de sólidos durante este procedimiento, se registró el peso de la muestra antes del tratamiento y después de secada. Además, se determinó el porcentaje de sólidos de los líquidos de cocción. También se determinó el contenido de proteína de las muestras tratadas.

1. Primer tratamiento.

a. Cocción en agua (Métodos # 4 al 12): 100 semillas pesadas previamente se colocaron en un vaso de precipitación ("beaker"), con 300 mL de una muestra preparada como se indica en el Cuadro 1. Las semillas se colocaron a hervir hasta que quedaron suaves (aproximadamente 6 horas). Cuando el líquido se consumía, se agregaba nuevo líquido a fin de conservar el volumen (agua des-ionizada en todos los casos, menos en el de pH ácido, donde se agregó más solución ácida). El agua se descartó (una porción de 5 mL se secó en cada caso para determinar la cantidad de sólidos perdidos). Los frijoles se secaron en un horno de convección, antes de molerlos.

b. Cocción al vapor (Método # 2): 300 semillas pesadas previamente se colocan en una olla dentro de un autoclave por 30 minutos (tarda aproximadamente 15 min en llegar a la temperatura de 121°C) y se deja enfriar. Luego se secaron en un horno de convección antes de molerlos.

c. Cocción en microondas (Método # 3): 100 semillas pesadas previamente se colocaron en un vaso de precipitación. Se las calentó en un horno de microondas durante un minuto. Las semillas se secaron luego en un horno de convección, antes de molerlas.

2. Obtención de harina.

a. Molienda: Los granos, ya secos, se molieron de primero en un molino de café, hasta lograr pedazos pequeños. Luego se molieron en un molino centrífugo para lograr una harina fina.

3. Segundo Tratamiento.

a. Extracción con agua: Tres porciones, de 4 g cada una, de harina de cada muestra que recibió el primer tratamiento, se colocaron en un vaso de precipitación con cierta cantidad de agua deionizada (depende del tiempo de ebullición, debido a la evaporación, véase Cuadro A-3 del Apéndice). Una porción no se hirvió. Otra se hirvió durante tres minutos y la otra durante seis minutos (véase Gráfica 2) Después se centrifugó y se separaron las fracciones. La fracción sólida se secó.

4. Equipo

Cuadro 2. Equipo utilizado

Equipo	Fabricante	Modelo
Autoclave	Market Forge	STM-6
Espectrofotómetro	Spectronic Instruments	CSA LR 45227
Medidor de pH	Mettler Toledo	MP220
Balanza analítica	Denver Instrument	M-120
Estufa	CORNING	PC-420
Digestor	LABCONCO	06030000 AJ
Destilador	LABCONCO	6500000
Horno	Fisher Scientific	516G
Molino	UDY Corporation	3010-030
Microondas	Panasonic	-----
Mufla	Barnstead/Thermolyne	F62735

5. Método para el análisis de L-DOPA.

Cuadro 3. Método para L-DOPA (Szabo y Tebbett, 2002).

Reactivos	Equipo
Ácido clorhídrico 0.1N	Pipetas de 4mL.
Alcohol etílico 50%	Centrífuga y tubos de centrífuga
Curva estándar de L-DOPA	Balanza analítica
Agua	Balones aforados de 50 mL, 100 mL, 1000 mL.
	Espectrofotómetro
	Vasos de precipitación de 1000 mL
	Embudos
	Papel filtro Whatman No. 4
<ol style="list-style-type: none"> Hacer las soluciones de etanol y ácido clorhídrico. Hacer la curva de L-DOPA (1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 µg/mL). Pesar 0.25 g de las muestras en los tubos de centrífuga. Poner a hervir agua. Agregar a los tubos de centrífuga 4 mL de HCl 0.1N. Hervir los tubos por 5 min. a baño maría en el agua caliente. Dejar que se enfríen y agregar 4 mL de alcohol al 50%. Centrifugar por 10 min a 4000 rpm. Decantar el líquido en embudo con papel filtro Whatman No.4, dentro de un balón aforado de 100 mL. Agregar a la muestra otros 4 mL de alcohol al 50%. Centrifugar por 10 min. Decantar en el balón. Repetir 1 vez más. Aforar a 100 mL con etanol al 50%. Ajustar el espectrofotómetro (283nm) a 0 con etanol al 50%, leer la curva y las muestras. Determinar la cantidad de L-DOPA presente en las muestras. 	

6. Método para el análisis de proteínas.

Cuadro 4. Método para micro Kjeldahl (AOAC, 1984)

Reactivos	Equipo
Ácido sulfúrico 93-98% H ₂ SO ₄	Balones Kjeldahl 100mL
Oxido de mercurio HgO	Digestor Kjeldahl
Sulfato de potasio K ₂ SO ₄	Destilador Kjeldahl
Ácido bórico al 8%	Balanza
Tiosulfato de sodio al 4%	Buretas
Hidróxido de sodio NaOH (10N)	Vasos de precipitación
Solución de ácido clorhídrico 0.1N	Probetas
Rojo de metilo (1g en 200mL de alcohol)	Gotero
<ol style="list-style-type: none"> Poner la muestra (0.25g) en el balón Kjeldahl. Agregar 0.1g de HgO, 1.5g de K₂SO₄ y 3ml. de H₂SO₄. Colocar el balón en posición inclinada y calentar hasta que se ponga transparente en el digestor. Enfriar y agregar un poco de agua fría. Agregar 13ml. de NaOH 10N y 5 mL de Tiosulfato de sodio 4%. Colocar la muestra en un sistema de destilación. Recibir del condensador en una solución de ácido bórico al 8% con 3 gotas de rojo de metilo. Destilar hasta que todo el NH₃ salga (≥70 mL de destilado). Titular la solución con HCl 0.1N. 	
$10. \%N = \frac{\text{mL HCl} \times \text{normalidad HCl} \times 0.014 (\text{Factor N}) \times 100 \times 6.25 (\text{Factor proteína})}{\text{Peso de la muestra}}$	

E. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para comprobar la hipótesis de investigación se empleó un diseño experimental con posprueba únicamente, selección aleatoria de las muestras, y grupo de control (Hernández et al. 2003).

Se estudió el efecto de los diferentes tratamientos (variables independientes, véase las Gráficas 1 y 2 y Cuadro 1) sobre las siguientes variables dependientes:

- El contenido de L-Dopa en las diferentes harinas.
- El contenido de proteína en las diferentes harinas.

Los datos se procesaron utilizando el paquete estadístico de Microsoft Excel y el programa Analyse-it (<http://www.analyse-it.com/>)

El propósito de los experimentos fue encontrar un tratamiento que reduzca a cero el contenido de L-Dopa del frijol terciopelo negro, con el mínimo daño a sus propiedades nutritivas. Para esto, a un grupo se aplicaron diversos tratamientos (Cuadro 1), seguidos de molienda y extracción con agua hirviendo (Gráfica 1) Cada prueba se realizó con múltiples replicados, incluyendo los tiempos de ebullición durante la segunda fase del procedimiento. Se buscaron diferencias en el contenido de L-Dopa y proteína causadas por los tratamientos, con respecto al control.

Se seleccionó un nivel de significación $\alpha=0.05$ (probabilidad de cometer un error tipo I, falso positivo) para las pruebas estadísticas.

Para observar si existen diferencias significativas entre los tratamientos se empleó análisis de varianza de una vía y comparaciones pareadas de medias por el método de la mínima diferencia significativa y el método de Tukey (Montgomery, 1997) Como el análisis de varianza requiere una distribución normal de los datos, se realizó la prueba Shapiro-Wilk W para normalidad (Programa Analyse-it)

Para determinar si existe asociación entre el tiempo de ebullición (2° Tratamiento) y el contenido de L-Dopa en la fase sólida, así como entre el contenido de L-Dopa en la fase sólida y el contenido de sólidos en la fase líquida, se empleó una prueba de correlación de Pearson para variables continuas normalmente distribuidas. Además, se efectuó un análisis de regresión lineal para ajustar los datos a ecuaciones y calcular coeficientes de correlación (Programa Analyse-it).

Para determinar si los coeficientes de correlación de Pearson eran significativos al nivel de $\alpha = 0.05$, se emplearon valores críticos publicados en Internet (Siegle, 2003) Para los coeficientes de correlación para regresión lineal se utilizó una tabla de valores críticos publicada por Volk, 1969.

F. RESULTADOS

1. Primer tratamiento

Cuadro 5. Contenido de L-Dopa y proteína

Muestra	Porcentaje		
	L-Dopa	Disminución L-Dopa	Proteína
Control	6.088	0.00	22.813
Vapor	6.371	-4.65	23.072
Microondas	6.358	-4.43	23.288
pH7	3.961	34.94	21.856
Ca(OH) ₂ pH9	3.869	36.45	22.398
Ca(OH) ₂ pH11	3.886	36.17	22.802
KOH pH9	4.445	26.99	22.186
KOH pH11	4.392	27.86	23.371
NaOH pH9	3.766	38.14	22.005
NaOH pH11	3.826	37.16	21.607
HCl pH3	4.151	31.82	20.859
HCl pH6	4.046	33.54	20.567

2. Segundo tratamiento

Cuadro 6. Miligramos de L-Dopa por mililitro en el líquido de cocción

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	0.0282	0.9130	0.0020
Vapor	0.0425	1.0143	0.0016
Microondas	0.0247	0.8933	0.0022
pH7	0.0231	0.5481	0.0012
Ca(OH) ₂ pH9	0.0015	0.0016	0.0014
Ca(OH) ₂ pH11	0.0014	0.0015	0.0014
KOH pH9	0.0015	0.0016	0.0015
KOH pH11	0.0016	0.0016	0.0015
NaOH pH9	0.0014	0.0015	0.0014
NaOH pH11	0.0015	0.0015	0.0013
HCl pH3	0.0015	0.0014	0.0012
HCl pH6	0.0014	0.0014	0.0011

Cuadro 7. Porcentaje de sólidos del líquido de cocción

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	2.770	1.691	2.044
Vapor	2.135	1.954	2.312
Microondas	2.075	1.548	1.708
pH7	1.195	1.019	1.095
Ca(OH) ₂ pH9	1.202	1.457	1.285
Ca(OH) ₂ pH11	1.149	1.413	1.322
KOH Ph9	1.279	1.565	1.471
KOH Ph11	1.365	1.615	1.458
NaOH pH9	1.256	1.499	1.349
NaOH pH11	1.277	1.481	1.275
HCl Ph3	1.354	1.389	1.197
HCl Ph6	1.252	1.311	1.082

Cuadro 8. Contenido de L-Dopa de la fase sólida después del Segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	1.896	5.060	3.761
Vapor	2.313	4.333	1.827
Microondas	2.086	5.340	2.167
pH7	1.481	2.121	1.471
Ca(OH) ₂ pH9	1.598	2.971	1.192
Ca(OH) ₂ pH11	2.064	3.263	1.771
KOH Ph9	2.564	2.847	1.565
KOH pH11	2.307	3.833	1.278
NaOH pH9	2.900	2.897	1.638
NaOH pH11	2.960	1.832	2.084
HCl pH3	1.971	1.991	1.374
HCl pH6	1.870	1.833	1.470

Cuadro 9. Contenido de proteína de la fase sólida después del segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	13.587	25.128	24.772
Vapor	17.601	22.376	25.123
Microondas	22.822	27.812	25.640
pH7	28.191	25.527	27.595
Ca(OH) ₂ pH9	27.294	28.466	29.746
Ca(OH) ₂ pH11	30.444	30.707	28.759
KOH pH9	30.848	28.999	26.488
KOH pH11	30.629	29.888	28.283
NaOH pH9	29.186	27.925	28.138
NaOH pH11	28.450	27.698	28.152
HCl pH3	29.544	27.921	29.144
HCl pH6	28.737	29.908	28.353

Cuadro 10. Porcentaje de disminución final de L-Dopa (100% = 6.0875% de L-Dopa)

Muestra	Tiempo de ebullición (minutos)		
	0	3	6
Control 2	68.861	16.871	38.222
Vapor	62.009	28.819	69.988
Microondas	65.727	12.272	64.411
pH7	75.674	65.161	75.833
Ca(OH) ₂ pH9	73.749	51.190	80.424*
Ca(OH) ₂ pH11	66.092	46.393	70.910
KOH pH9	57.885	53.240	74.288
KOH pH11	62.109	37.036	78.999
NaOH pH9	52.367	52.404	73.084
NaOH pH11	51.375	69.904	65.773
HCl pH3	67.616	67.300	77.429
HCl pH6	69.287	69.895	75.846

* Máxima reducción alcanzada en este trabajo.

Cuadro 11. Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al tiempo de ebullición en el segundo tratamiento

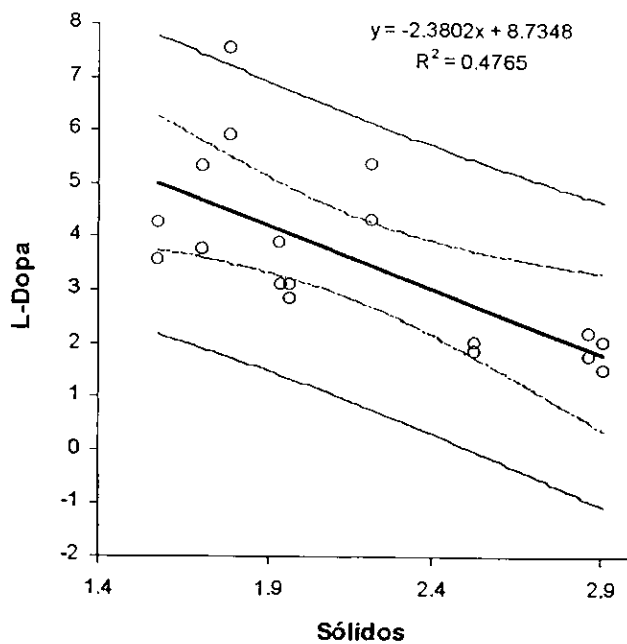
Muestra	L-Dopa	Proteína
Control 2	0.47	0.78
Vapor	-0.17	0.86
Microondas	0.02	0.32
pH7	-0.01	-0.16
Ca(OH) ₂ pH9	-0.18	0.52
Ca(OH) ₂ pH11	-0.11	-0.29
KOH pH9	-0.41	-0.57
KOH pH11	-0.33	-0.48
NaOH pH9	-0.52	-0.18
NaOH pH11	-0.47	-0.08
HCl pH3	-0.43	-0.07
HCl pH6	-0.40	-0.12

Cuadro 12. Coeficientes de correlación de Pearson con respecto al contenido de sólidos del líquido de cocción

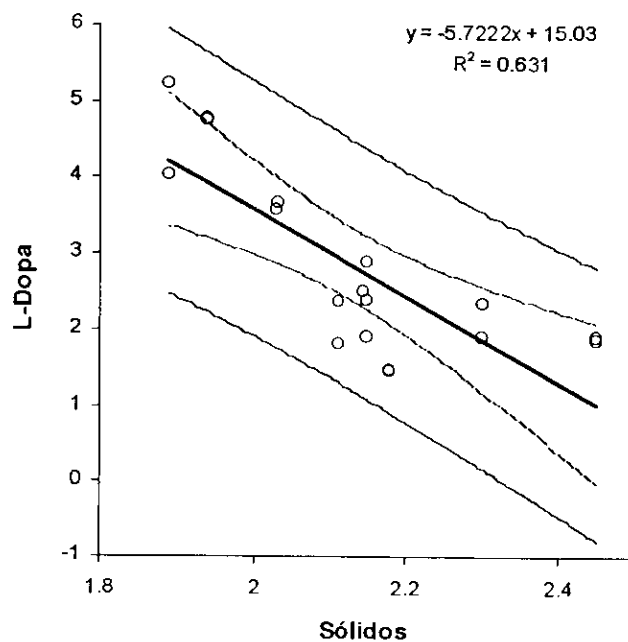
Muestra	L-Dopa/ %sólidos
Control 2	-0.69[◇]
Vapor	-0.79[◇]
Microondas	-0.46
pH7	-0.20
Ca(OH) ₂ pH9	0.61[◇]
Ca(OH) ₂ pH11	0.42
KOH pH9	0.12
KOH pH11	0.52[◇]
NaOH pH9	-0.02
NaOH pH11	-0.31
HCl pH3	0.41
HCl pH6	0.17

◇ Correlaciones significativas.

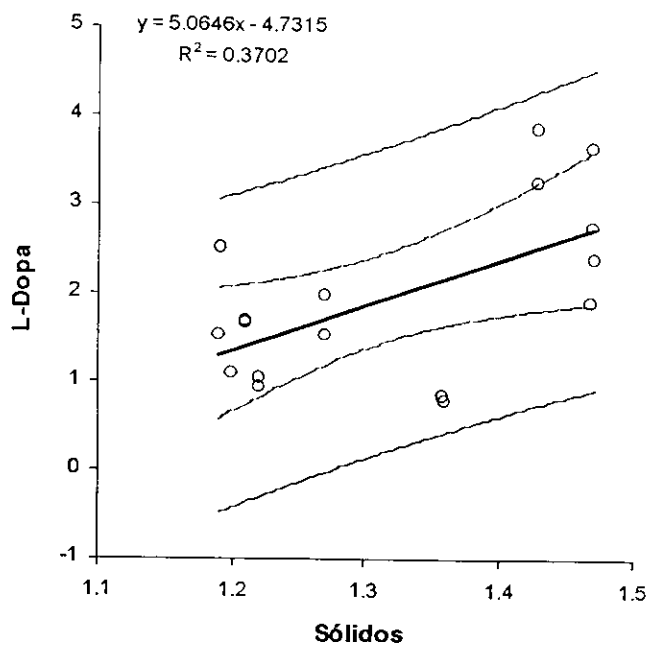
Gráfica 3. Regresión lineal para la muestra Control 2, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida).



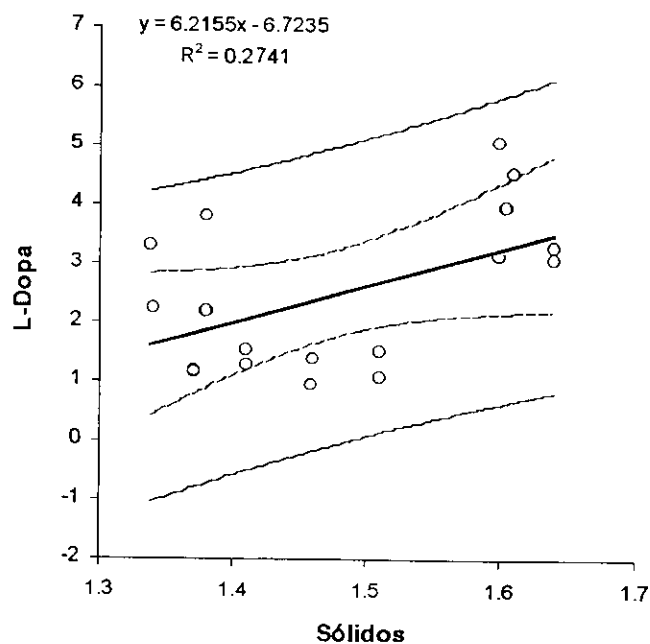
Gráfica 4. Regresión lineal para la muestra Vapor, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida).



Gráfica 5. Regresión lineal de la muestra Ca(OH)_2 pH9, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa (fase sólida).



Gráfica 6. Regresión lineal de la muestra KOH pH11, porcentaje de sólidos de la fase líquida contra L-Dopa.



Los coeficientes de correlación para las regresiones de las Gráficas 3 a 6 son significativos a un nivel de 0.05

G. DISCUSIÓN

1. Primer tratamiento. Después de realizados los primeros tratamientos listados en el Cuadro 1, se procedió a obtener el contenido de L-Dopa y proteína de las muestras, como indica la Gráfica 1. Esto se realizó por triplicado. Véanse los resultados promedio presentados en el Cuadro 5.

a. L-Dopa. El análisis de varianza de los datos demostró que existían diferencias significativas entre las muestras tratadas, en cuanto a su contenido de L-Dopa. Entonces se realizó un análisis comparativo (Mínima diferencia significativa).

Según este análisis, las muestras NaOH pH9, NaOH pH11, Ca(OH)_2 pH9, Ca(OH)_2 pH11, pH7 y HCl pH6 no tenían diferencias significativas entre sí. Además, fueron los tratamientos que más redujeron el contenido de L-Dopa en la muestra (de un 6% a un 3.8%, reducción del 38% masa sobre masa). De esto se observa que el método de cocer la muestra sólo en agua (pH7) era tan eficaz como cocerla con hidróxido de sodio (NaOH) e hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) a cualquier pH y con HCl a pH6.

El tratamiento con hidróxido de potasio (KOH) a cualquier pH y el tratamiento con HCl a pH3 no tienen diferencias significativas entre sí en cuanto al contenido de L-Dopa, pero sólo lograron reducir su contenido de 6% a 4.3%, por lo que resultaron menos eficaces que los anteriores.

Los tratamientos físicos (Microondas y Vapor) no tuvieron efectos significativos en la reducción del L-Dopa, conservando un porcentaje de alrededor del 6%. Debido a que a la muestra control (la cual sólo fue molida) no se le eliminó el agua como a las otras muestras, su contenido de L-Dopa parece ligeramente menor que el de las muestras de Microondas y Vapor.

b. Proteína. Con respecto al contenido de proteína, todos los métodos la conservaron prácticamente en su porcentaje original. No se observan diferencias significativas entre el contenido de proteína del frijol crudo (Control) y la mayor parte de las muestras, excepto por tres: NaOH pH11, HCl pH3 y HCl pH6.

Los tratamientos a pH ácido favorecieron la pérdida de proteína, así como el tratamiento con hidróxido de sodio a pH11. Sin embargo, la diferencia entre los tratamientos no es muy grande (Control 22%, HCl pH3 21% masa sobre masa) pero sí es significativa.

2. Segundo tratamiento. Los resultados promedio para el segundo tratamiento pueden verse en los Cuadros 8 (L-Dopa) y 9 (Proteína). En el Cuadro 10 se encuentran los porcentajes de disminución de L-Dopa en relación a la muestra Control.

El análisis de varianza de dos vías (comparar el efecto del primer tratamiento con el tiempo de ebullición) indicó diferencias significativas de ambos tratamientos sobre los contenidos de L-Dopa y proteína. También señaló una interacción significativa entre el primer y segundo tratamientos sobre dichos contenidos. Para

llegar a una comprensión más clara de los resultados, se tratará cada método (Cuadro 1) por separado. Luego se analizarán los casos según el tiempo de ebullición.

El segundo tratamiento ocasionó pérdida de masa en todas las muestras. Esto es porque al disolver las muestras en agua y luego separar la fase líquida de la sólida, esta última pierde compuestos solubles (véase Gráfica 1). En algunas de las muestras el contenido de proteína resultó mayor que en la muestra Control porque, al separar la fase líquida de la sólida en el segundo tratamiento, algunas sustancias solubles se quedaron en la fase líquida, mientras que la proteína permaneció en el sólido, con lo que su concentración se incrementó (véase Cuadro A1-6 del Apéndice).

Además se hicieron pruebas con respecto a hervir las harinas por nueve y doce minutos, pero las pérdidas de masa fueron mayores al 40%, por lo que no se consideraron prácticas desde el punto de vista económico, y no se analizaron.

Se realizaron triplicados de cada prueba del segundo tratamiento. Las determinaciones de L-Dopa y proteína se hicieron en duplicado, obteniéndose un total de seis resultados (tanto de L-Dopa como de proteína) para cada tiempo de ebullición (véase Gráfica 2).

En casi todos los tratamientos se observó una mayor concentración (significativa) de L-Dopa en las porciones hervidas por tres minutos que en las hervidas por cero y seis minutos. Este comportamiento muestra que la solubilidad del L-Dopa disminuye al hervir la harina por poco tiempo (tres minutos) y aumenta al hervirla por más tiempo (seis minutos). Las porciones sólo lavadas en agua presentan en general una cantidad similar de L-Dopa a la de las muestras hervidas por seis minutos, exceptuando las muestra NaOH pH9 y pH11, HCl pH3 y pH6, que se explican más adelante.

A continuación se discute el efecto del segundo tratamiento sobre el contenido de L-Dopa y proteína del frijol terciopelo, comparándolo con la muestra Control molida del primer tratamiento:

a. Control 2 (La muestra Control sometida al segundo tratamiento). De acuerdo con el análisis de varianza de una vía, lavar la muestra Control con agua fue significativamente más eficaz para disminuir el contenido de L-Dopa que hervirla por tres o seis minutos, pero provocó una mayor pérdida de proteína (de hecho, la mayor pérdida de proteína de todas las muestras es el Control lavado con agua a temperatura ambiente, siendo esta una pérdida significativa). Esto es porque parte de la proteína permanece soluble cuando la muestra se lava con agua a temperatura ambiente y se pierde al separar la fracción líquida. No hubo diferencias significativas en el contenido de L-Dopa entre las muestras Control 2 hervidas durante tres y seis minutos.

Al comparar la muestra Control con la muestra Control 2, se observa que hervir la muestra durante tres minutos no provocó una disminución significativa en el contenido de L-Dopa, aunque éste sí disminuyó significativamente en los otros dos casos.

b. Vapor. La muestra tratada en autoclave (Vapor) redujo significativamente su contenido de L-Dopa con respecto a la muestra Control en todos los tiempos de ebullición. En la muestra hervida durante tres minutos, se observó una reducción

significativamente menor de L-Dopa con respecto a los tratamientos a cero y seis minutos. También hubo una pérdida significativa de proteína al lavar la muestra con agua, pero no al hervirla.

c. Microondas. La muestra tratada por microondas exhibe un comportamiento similar al de la muestra tratada al vapor, en lo que se refiere a la pérdida de L-Dopa. (Excepto una reducción del contenido de L-Dopa no significativa al hervir la muestra por tres minutos).

En esta muestra se aprecian aumentos significativos en la concentración de proteína, por causa de la pérdida de masa total, aunque no en el tratamiento del tiempo 0.

d. pH7. En los tres tiempos de ebullición la reducción de L-Dopa con respecto al Control fue significativa. Sin embargo, el comportamiento fue similar al de la muestra al vapor, también con una reducción en el L-Dopa menor al hervir la harina por tres minutos, comparándola con los otros dos tratamientos.

El contenido de proteína no cambió significativamente al hervir la muestra por tres minutos, pero sí hubo cambio en los otros dos casos, en los que se observó aumentos.

e. Ca(OH)₂ pH9. Exhibe un comportamiento similar al de la muestra pH7, en lo que se refiere a pérdida de L-Dopa, con una disminución significativa del contenido de esta sustancia de acuerdo con la muestra control, y también en la muestra hervida por tres minutos la disminución fue menor.

Con respecto a la proteína, en todos los casos se aprecian aumentos de su contenido, por causa de la pérdida de otros compuestos al separar la fase sólida.

Es en esta muestra en la que se obtuvo la mayor disminución en la concentración de L-Dopa (véase Cuadro 10).

f. Ca(OH)₂ pH11. Con respecto al control, todos los cambios de L-Dopa y proteína fueron significativos. Se obtuvo una mayor eliminación de L-Dopa al hervir esta muestra por seis minutos, mientras que la menor pérdida fue la de tres minutos.

También se observa un aumento aparente en la concentración de proteína, por causa de la pérdida de otros componentes en el agua de cocción.

Entre las dos muestras tratadas con hidróxido de calcio (Ca(OH)₂ pH9 y Ca(OH)₂ pH11) no se aprecian diferencias significativas con respecto al contenido de L-Dopa en ninguno de los tiempos de ebullición del segundo tratamiento. Tampoco se aprecian diferencias significativas con respecto al contenido de proteína.

g. KOH pH9. El comportamiento de esta muestra es similar al de las anteriores, la disminución de L-Dopa fue significativa en todos los casos. Se observa una mayor concentración de L-Dopa en la muestra hervida por tres minutos, la cual tiene una diferencia significativa con respecto a la muestra hervida por seis minutos.

Con respecto a la proteína, todas las muestras presentaron un aumento en la concentración de la misma, el cual fue significativo con respecto a la muestra Control.

b. KOH pH11. En esta muestra, todas las pérdidas de L-Dopa fueron significativas con respecto al control. Sin embargo, la muestra hervida por tres minutos presentó una concentración significativamente mayor de L-Dopa que las otras dos.

En esta muestra también se observó una concentración final de proteína significativamente mayor a la de la muestra control.

Los dos tratamientos de Hidróxido de potasio (KOH pH9 y KOH pH11) no presentan diferencias significativas entre sí después del segundo tratamiento, tanto en L-Dopa como en contenido de proteína.

i. NaOH pH9. Esta muestra también presentó una reducción significativa en su contenido de L-Dopa, pero a diferencia de las muestras anteriores, en las que se observó una mayor retención de L-Dopa al hervirlas por tres minutos, en este caso, la muestra de cero minutos y la de tres minutos de ebullición no tienen diferencias significativas entre sí. Es la muestra hervida por seis minutos la única significativamente diferente, con una concentración final menor de L-Dopa.

En esta muestra también se aprecia un aumento significativo de la proteína con respecto al Control en todos los casos.

j. NaOH pH11. En esta muestra también hubo una reducción significativa del L-Dopa en todos los casos con respecto a la muestra Control. Sin embargo, a diferencia de todas las muestras anteriores, el lavar la muestra con agua a temperatura ambiente redujo la cantidad de L-Dopa en menor medida que al hervirla. No hay diferencias significativas entre las muestras hervidas por tres y seis minutos, pero la muestra no hervida si presenta diferencias significativas con respecto a las hervidas.

También se aprecia un aumento en el contenido de proteína en todos los casos.

Entre las dos muestras tratadas con hidróxido de sodio (NaOH pH9 y NaOH pH11) no hay diferencias significativas con respecto a su contenido de L-Dopa y de proteína.

k. HCl pH3. Este método produjo reducciones significativas en el contenido de L-Dopa con respecto a la muestra Control. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los diferentes tiempos de ebullición del segundo tratamiento con respecto al L-Dopa y a la proteína.

También se observó un aumento significativo en la concentración final de proteína con respecto a la muestra Control.

l. HCl pH6. En esta muestra se aprecia también una disminución significativa de L-Dopa con respecto a la muestra Control. Su comportamiento es muy similar al comportamiento de la muestra HCl pH3, tanto en cuanto al contenido de L-Dopa como al contenido de proteína.

En esta muestra también se aprecia un aumento significativo de proteína con respecto a la muestra Control.

m. Correlaciones. No se encontró correlación significativa entre el tiempo de ebullición y el contenido de L-Dopa y de proteína en la fase sólida. Los Cuadros 11 y 12 contienen los coeficientes de correlación de Pearson para estas pruebas.

A excepción de cuatro casos, no se encontró una correlación significativa entre el contenido de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de sus respectivas fases sólidas.

En la muestra Control 2 se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de la fase sólida (Cuadro 12) El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Gráfica 3). En este caso, la correlación es negativa. Esto significa que entre más sólidos se encuentran en la fase líquida, hay menos L-Dopa en la fase sólida. Este es un resultado lógico, ya que esto indica que entre los sólidos que se perdieron en el líquido de cocción se encuentra el L-Dopa.

En la muestra Vapor se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de sólidos del líquido de cocción y el contenido de L-Dopa de la fase sólida (Cuadro 12) El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Gráfica 4). La correlación también es negativa, por lo que la explicación es la misma que para el caso de la muestra Control 2.

Al realizar una correlación de Pearson entre el contenido de L-Dopa de la fase sólida y el porcentaje de sólidos de la fase líquida de la muestra Ca(OH)_2 pH9, se observó una correlación significativa (Cuadro 12) El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Gráfica 5). En este caso, la correlación es positiva. Esto indica que mientras más sólidos se encuentran en la fase líquida, más L-Dopa se encuentra en la fase sólida. En este caso, la mayor cantidad de sólidos disueltos hace más lenta la salida del L-Dopa.

Al realizar una correlación de Pearson entre el contenido de L-Dopa de la fase sólida y el porcentaje de sólidos de la fase líquida de la muestra KOH pH11, se observó una correlación significativa (Cuadro 12) El análisis de regresión también dio un coeficiente de correlación significativo (Gráfica 6). En este caso la correlación es también positiva.

IV. TAMAÑO DEL GRANO Y RETENCIÓN DE L-DOPA DURANTE LA COCCIÓN.

A. JUSTIFICACIÓN

El frijol *Mucuna pruriens* es una semilla con muy buenas características, tanto como alimento como por sus propiedades como cultivo de cobertura. Pero por su contenido de L-Dopa, su aprovechamiento como alimento es muy escaso. Como el L-Dopa se extrae más fácil mientras más fina es la partícula, es posible que si se utilizan sólo semillas pequeñas, la extracción del L-Dopa se facilite.

B. OBJETIVOS

1. **General.** Lograr una extracción significativa de L-Dopa en las muestras.
2. **Específicos.** Estudiar la relación entre el tamaño de semilla y el contenido de L-Dopa antes y después de la cocción.

C. HIPÓTESIS

1. **De investigación.** Las semillas de *Mucuna pruriens* de menor tamaño contienen menor cantidad de L-Dopa.
2. **Nula.** No hay diferencia significativa en el contenido de L-Dopa entre las semillas de *Mucuna pruriens* de diferente tamaño.

D. MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron muestras diferentes de frijol *Mucuna*, como se indica en el siguiente cuadro:

Cuadro 13. Muestras originales.

Muestra	Características
A	Semillas de frijol <i>Mucuna pruriens</i> de color negro, cultivadas en El Paraíso, Patulul, Guatemala.
B	Semillas de frijol <i>Mucuna pruriens</i> de color negro, suministradas por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Guatemala (ICTA).
C	Semillas de frijol <i>Mucuna pruriens</i> de color beige, cultivadas en Las Marías, Patulul, Guatemala.

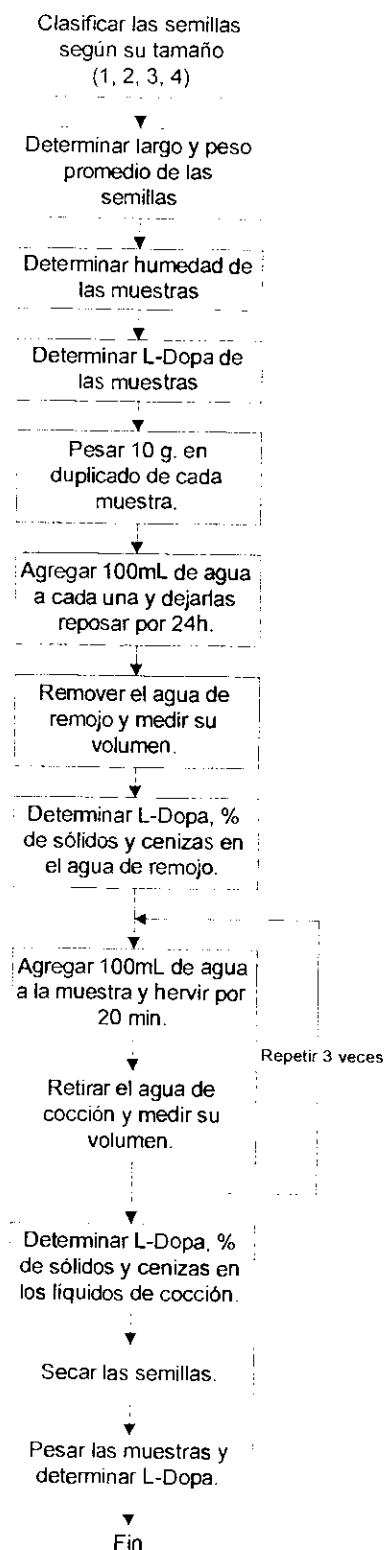
Las muestras se clasificaron a mano según su tamaño, dividiéndose arbitrariamente en cuatro categorías diferentes (1, 2, 3, 4). De cada tamaño se midieron y pesaron algunas semillas para obtener un promedio.

Porcentaje de humedad: Las muestras crudas y molidas se colocaron en cápsulas de aluminio previamente pesadas. Las muestras se pusieron en un horno de convección durante 24h. Las cápsulas se dejan enfriar en una desecadora y se pesan de nuevo.

Procedimiento de cocción: Las muestras de semillas debidamente pesadas se colocaron en vasos de precipitar. Luego se agregó 100 mL de agua a cada vaso y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 24h. Cuando pasó el tiempo, el agua se retiró y se midió su volumen. Se guardó parte para los siguientes análisis. A las semillas se les agregó nuevamente 100mL de agua, y se pusieron a hervir durante 20 minutos. Este procedimiento se realizó tres veces en total. Todas las aguas de cocción se midieron. Se guardó parte de las mismas para los siguientes análisis.

L-Dopa: Se tomó 5 mL de cada líquido y se aforó a 50ml. El L-Dopa se determinó leyendo las muestras en un espectrofotómetro a 283nm (véase Cuadros 2 y 3).

Gráfica 7.



Porcentaje de sólidos: Se tomó 10mL de cada líquido, se colocó en un vaso de precipitar de 50mL y se dejó secar en un horno de convección por 24h. Una vez seco, el vaso de precipitar volvió a pesarse y se obtuvo la diferencia.

Porcentaje de ceniza: Se vertieron de 2 a 5mL de la muestra en un crisol de porcelana previamente pesado, después de lo cual se volvió a pesar. Los crisoles fueron puestos en un horno de convección durante 24h y volvieron a pesarse. Se colocaron en una mufla (véase Cuadro 2) durante 3 horas a 600°C. Los crisoles se dejaron enfriar en una desecadora y se pesaron.

Las semillas cocidas se secaron en un horno de convección. Se molieron y se les determinó el L-Dopa (véase Cuadros 2 y 3).

E. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental fue similar al de la Parte I (Efecto de la cocción ácida y alcalina sobre la eliminación de L-Dopa en frijol *Mucuna*)

El propósito de los experimentos fue determinar si el tamaño de las semillas influye significativamente en la eliminación de la sustancia L-Dopa durante el remojo y cocción de las muestras.

Para observar si existen diferencias significativas entre las muestras después del tratamiento se empleó análisis de varianza de dos vías y pruebas t (Programa Analyse-it).

Para determinar si el tamaño de las semillas estaba relacionado con el contenido de L-Dopa de las muestras, se realizaron correlaciones de Pearson. Además, se efectuó un análisis de regresión lineal para ajustar los datos a ecuaciones y calcular coeficientes de correlación (Programa Analyse-it).

Se seleccionó un nivel de significación $\alpha=0.05$ (probabilidad de cometer un error tipo I, falso positivo) para las pruebas estadísticas.

F. RESULTADOS

Cuadro 14. Características de las muestras crudas

Muestra	Peso/semilla (g)	Largo/semilla (mm)
1A	0.982	15.2
2A	0.962	14.4
3A	0.871	13.7
4A	0.663	12.6
1B	1.540	17.0
2B	1.014	15.7
3B	0.747	14.2
4B	0.596	12.6
1C	1.379	16.9
2C	1.204	15.6
3C	0.948	14.7
4C	0.734	13.0

Cuadro 15. Contenido de L-Dopa de las muestras antes del tratamiento

Muestra	% L-Dopa base húmeda	% L-Dopa base seca
1A	3.635	4.642
2A	3.459	3.511
3A	3.220	3.487
4A	3.027	3.241
1B	4.676	5.260
2B	4.984	5.000
3B	4.730	5.256
4B	4.408	4.631
1C	4.424	5.455
2C	3.837	5.486
3C	4.006	4.816
4C	3.325	3.441

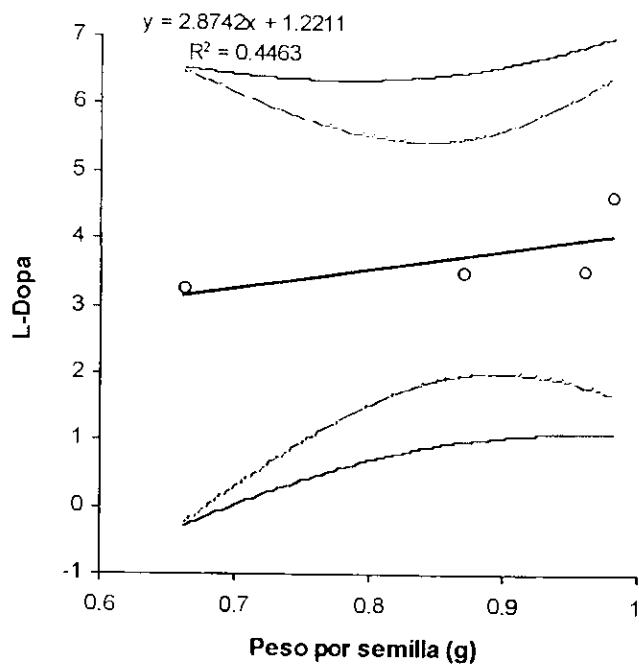
Cuadro 16. Contenido de L-Dopa de las muestras después del tratamiento

Muestra	% L-Dopa	% de reducción
1A	4.334	6.623
2A	3.436	2.136
3A	3.408	2.258
4A	3.026	6.631
1B	4.774	9.250
2B	4.521	9.572
3B	4.782	9.030
4B	3.990	13.855
1C	4.767	12.621
2C	4.905	10.589
3C	4.038	16.147
4C	3.775	-9.688

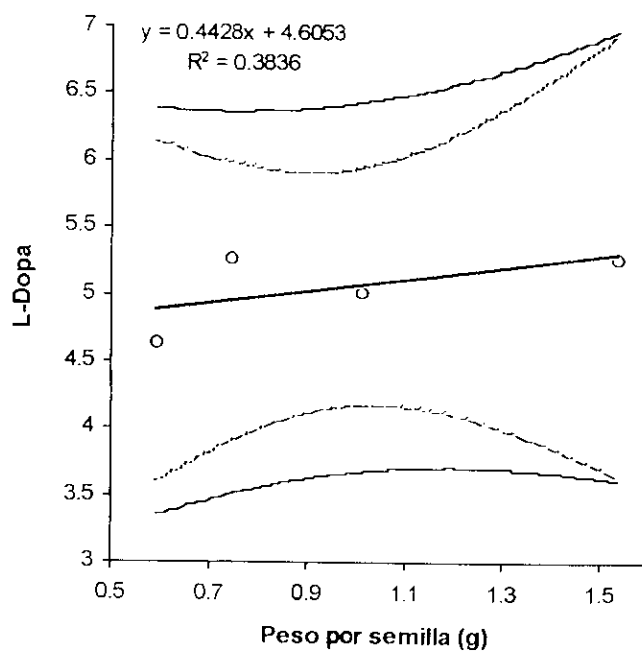
Cuadro 17. Coeficientes de correlación de Pearson para el contenido de L-Dopa frente a peso por semilla, y el contenido de L-Dopa frente a tamaño de la semilla.

Muestra	Peso (g)	Tamaño (largo, mm)
A	0.67	0.85
B	0.62	0.72
C	0.92	0.93

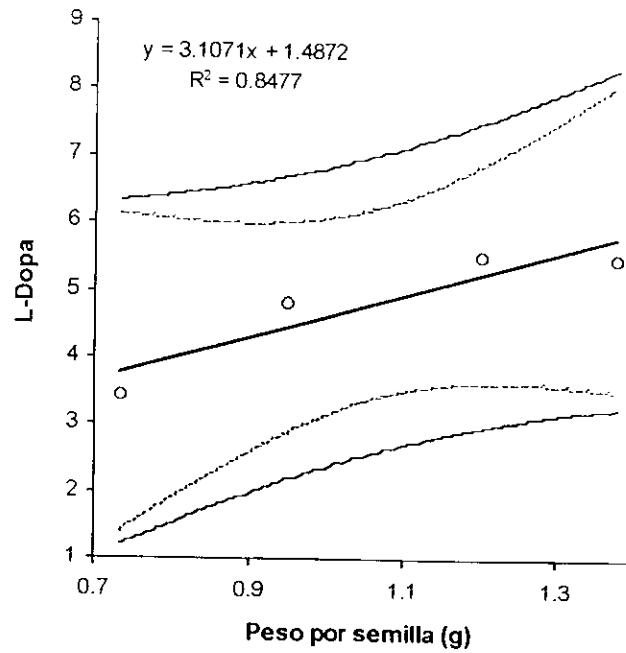
Gráfica 8. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra A.



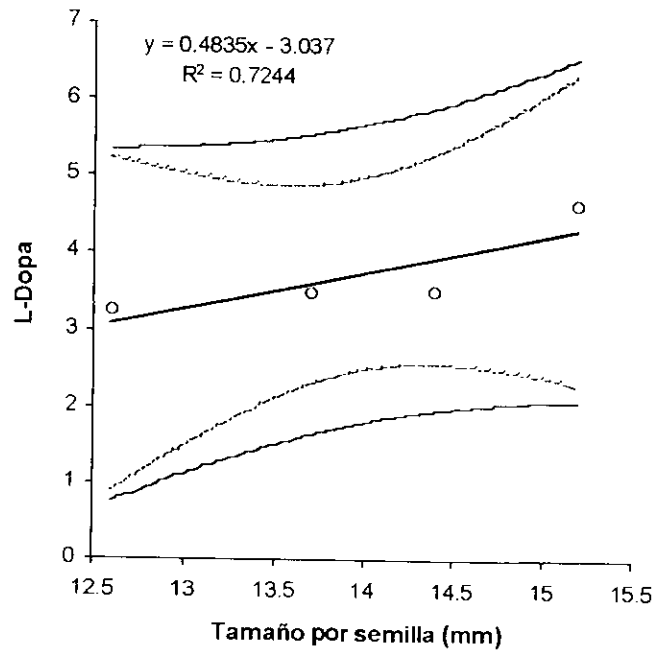
Gráfica 9. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra B.



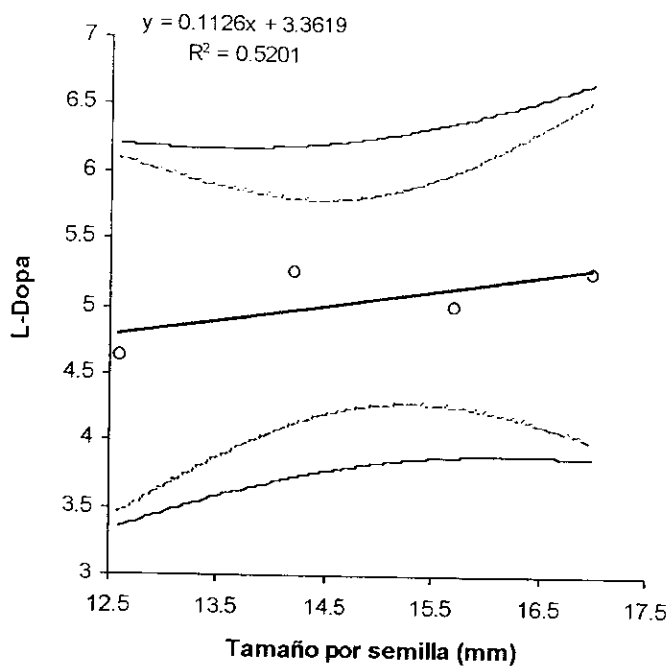
Gráfica 10. Regresión lineal del peso de la semilla contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra C.



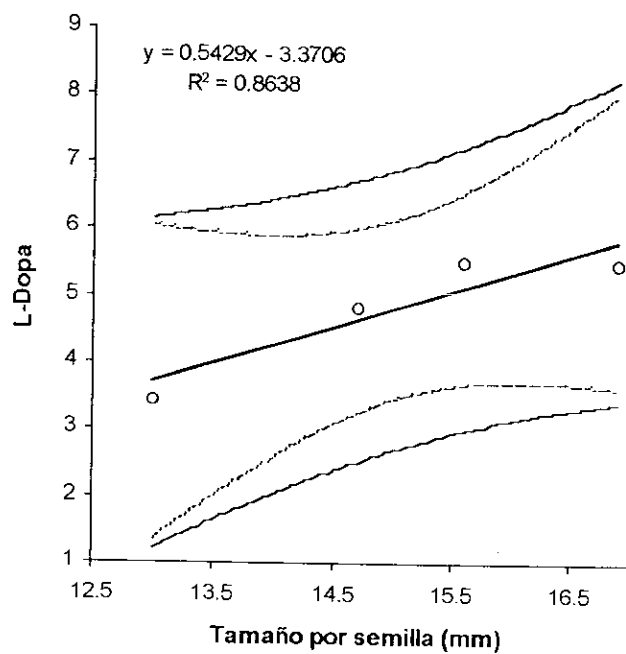
Gráfica 11. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra A.



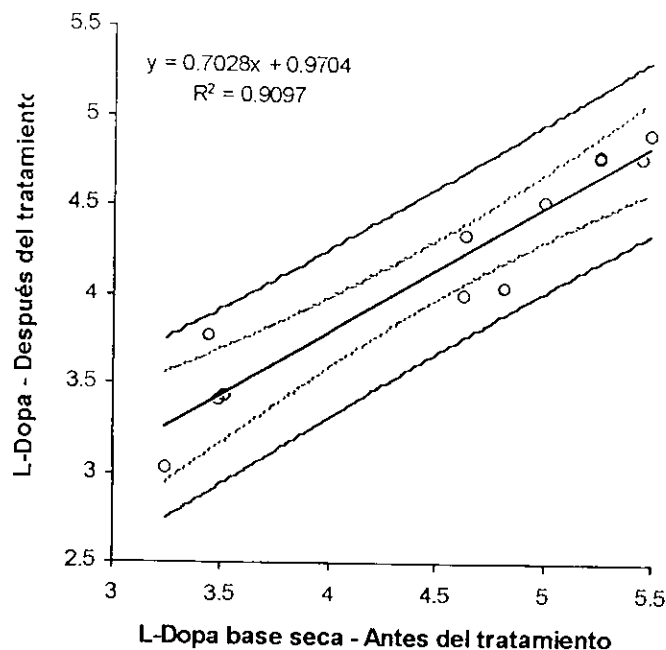
Gráfica 12. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra B.



Gráfica 13. Regresión lineal del tamaño contra el contenido de L-Dopa base seca de la muestra C.



Gráfica 14. Regresión lineal entre la concentración de L-Dopa (base seca) antes y después del tratamiento



En este caso, la correlación de Pearson tuvo un coeficiente de 0.95, el cual es significativo.

G. DISCUSIÓN

Se analizaron tres tipos diferentes de frijol *Mucuna*, dos variedades negras y una de color beige. Cada una de las muestras se separó a mano en cuatro categorías, según su tamaño (su largo, se midió en mm). A cada tamaño, de cada muestra, se le determinó el L-Dopa. Estos datos constituyen el control con respecto a las muestras tratadas. Aprovechando los datos de contenido de humedad, estos datos fueron corregidos (véase Cuadro 15 de Resultados y Cuadro A2-2 del Apéndice).

El tamaño 1 era el más grande y el tamaño 4 el más pequeño, en todas las muestras, así que las muestras se separaron en los grupos 1A, 2A, 3A, 4A, 1B, 2B, 3B, 4B, 1C, 2C, 3C y 4C.

Según la muestra original a la que pertenecían (A, B o C), se realizó un análisis de varianza de dos vías, para determinar si las diferencias entre las muestras eran por causa del tamaño (1, 2, 3 ó 4) o por el tratamiento (diferencias entre los diferentes controles y las muestras tratadas).

También se realizaron pruebas t para determinar si las muestras individuales tratadas, de todo tipo y tamaño, tenían diferencias con el control.

En los tres tipos de semillas se observaron concentraciones mayores de L-Dopa en las semillas más grandes (véase Cuadro 15 de Resultados). Esto sugiere que el L-Dopa se produce a medida que la semilla crece.

1. Muestra A. Esta muestra consistía en un frijol redondeado, de color negro. De las tres muestras analizadas era la más pequeña (ver Cuadro 14 de Resultados).

En el análisis de varianza de dos vías se observó que, el contenido de L-Dopa de las muestras A (tanto Control como tratadas), se diferencia sólo por tamaño, no por el tratamiento. Al realizar pruebas t a todas las muestras A, se observó que no hay diferencias significativas entre control y muestras tratadas.

Esto significa que la muestra A no fue afectada significativamente, en su contenido de L-Dopa, con el tratamiento utilizado en este estudio.

2. Muestra B. Esta muestra consistía en un frijol negro grande y aplanado. De todas las muestras tratadas, contiene las semillas más largas y pesadas (véase Cuadro 14 de Resultados).

En el contenido de L-Dopa de la muestra B se observa, de acuerdo con el análisis de varianza de dos vías, que las diferencias entre las muestras son causadas tanto por su tamaño como por el tratamiento. Las pruebas t indicaron que sólo la muestra B tamaño 1 no fue afectada significativamente por el tratamiento. Esto muestra que el tratamiento afectó más a las semillas más pequeñas.

3. Muestra C. La muestra C era un frijol terciopelo de color beige, con semillas redondeadas. (Véase Cuadro 14 de Resultados).

De acuerdo con el análisis de varianza de dos vías, el tamaño de las semillas influye significativamente en su contenido de L-Dopa, no así el tratamiento. Según las pruebas t, sólo el tamaño 4 no fue afectado significativamente; de hecho, el contenido de L-Dopa parece haber aumentado (Véase Cuadro 16 de Resultados). La muestra 4C es la que mayor cantidad de sólidos perdió en la cocción (Cuadro A2-7 del Apéndice), lo que afectó el resultado.

4. Correlación. Para determinar si las diferencias en el contenido de L-Dopa de las muestras A, B y C eran causadas por el tamaño y peso de la semilla, se realizaron correlaciones de Pearson y regresiones lineales de L-Dopa contra tamaño (por semilla) y L-Dopa contra peso (por semilla).

Al realizar estas correlaciones y regresiones se observó que ninguna fue significativa (véase Cuadro 17 y Gráficas 8 a 13 de Resultados).

La correlación de Pearson y la regresión lineal entre el contenido de L-Dopa base seca antes del tratamiento y el contenido de L-Dopa después del tratamiento, fueron significativas, lo que indica que el contenido de L-Dopa de las muestras después del tratamiento depende del contenido de las mismas antes del tratamiento (véase Gráfica 14 de Resultados).

V. CONCLUSIONES

A. Primer Estudio.

- Ninguno de los métodos ensayados en el presente estudio es capaz de eliminar totalmente el L-Dopa del frijol *Mucuna*.
- El método más eficaz para eliminar el L-Dopa y conservar el mayor porcentaje de proteína consiste en hervir por seis minutos la muestra tratada con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a pH9.

B. Segundo estudio.

- El cocer las semillas enteras, separadas por tamaño, sin tratamiento químico, afectó significativamente el contenido de L-Dopa en las muestras B y C, pero no a la muestra A.
- El contenido de L-Dopa de las semillas difiere según su tamaño, aunque no hay una correlación significativa entre el peso o el largo de las semillas y su contenido de L-Dopa.

VI. BIBLIOGRAFÍA

- AOAC Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 1984. 14a. ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc. US.
- Bressani, R. 2002. Factors Influencing Nutritive Value in Food Grain Legumes: *Mucuna* Compared to Other Grain Legumes. Ch 8. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Bressani, R., M. Lau, M. Vargas. 2003. Protein and Cooking Quality and Residual Content of Dehydroxyphenilalanine and Trypsin Inhibitors of Processes *Mucuna* Beans (*Mucuna* spp), Tropical and Subtropical Agrosystems. 1. 197 - 212.
- Buckingham, J. (Editor) 1982. Dictionary of Organic Compounds. 5a. ed. Chapman and Hall. V.2. US.
- Buckles, D., B. Triomphe, G. Sain. 1998. Los cultivos de cobertura en la agricultura en laderas: Innovación de los agricultores con *Mucuna*, IDRC/CIMMYT: <http://www.idrc.ca/books/focus/881/chap01>
- Bunch, C. 2002. Community-Level Development of *Mucuna* Recipes: The Example of Nutricocina. Ch 10. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Daxenbichler, M., C. VanEtten, F. Earle, W. Tallent. 1972. *L-Dopa* Recovery from *Mucuna* Seed, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 20: 1046, 1047, 1048.
- Diallo, O., S. Kante, R. Myhrman, M. Soumah, N. Cissé, T. Berhe. 2002. Increasing Farmer Adoption of *Mucuna pruriens* as Human Food and Animal Feed in the Republic of Guinea. Ch 3. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Eilittä, M., R. Bressani, L. Carew, R. Carsky, M. Flores, R. Gilbert, L. Huyck, L. St-Laurent, N. Szabo. 2002. *Mucuna* as Food and Feed Crop: an Overview. Ch 1. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Eilittä, M., L. Sollenberg. 2002. The Many Uses of *Mucuna*: Velvetbean in the Southern United States in the Early 20th Century. Ch 4. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Gilbert, R. 2002. *Mucuna pruriens* in Malawi: A promising Legume with a Troubled History. Ch 2. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.

- Hernández, R., Fernández, C., Baptista, P. 2003. Metodología de la Investigación. 3ª Edición. Mc Graw-Hill. México.
- Hutton, J. T. 1989. Diagnosis and Treatment. Ch 1. En: Caring for the Parkinson Patient. Hutton, J. T. y R. L. Dippel (Ed.). Prometheus Books. US.
- Lehninger, A., D. Nelson, M. Cox. 1993. Principles of Biochemistry. Worth Publishers. US.
- Montgomery, D. C. 1997. Design and Analysis of Experiments. Fourth Edition. John Wiley y Sons. New York.
- Myhrman, R. 2002. Detection and Removal of L-Dopa in the Legume *Mucuna*. Ch 7. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Pretty, J. 2002. "The Magic Bean" (*Mucuna pruriens* ~ the velvetbean) Briefing Notes to accompany BBC2 Correspondent Programme (June 10th) directed and produced by Suzanne Campbell-Jones. Recuperado de Internet el 26/04/2003:
<http://www2.essex.ac.uk/ces/ResearchProgrammes/SusAg/TheMagicBean.pdf>
- Siddhuraju, P., K. Becker, 2001. Effect of Various Domestic Processing Methods on Antinutrients and In Vitro Protein and Starch Digestibility of Two Indigenous Varieties of Indian Tribal Pulse, *Mucuna pruriens* Var. *utilis*, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 3058-3067.
- Siddhuraju, P., K. Becker, H. Makkar, 2000. Studies on the Nutritional Composition and Antinutritional Factors of Three Different Germplasm Seed Materials of an Under-Utilized Tropical Legume, *Mucuna pruriens* Var. *Utilis*, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 6048-6060.
- Siddhuraju, P., K. Vijayakumari, K. Janardhanan, 1996. Chemical Composition and Protein Quality of the Little-Known Legume, Velvet bean (*Mucuna pruriens* (L.) DC.), Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44: 2636-2641.
- Siegle, D., 2003. Critical Values of the Pearson Product-Moment Correlation Coefficient. Recuperado de Internet el 02/01/2004:
<http://www.gifted.uconn.edu/siegle/research/Correlation/corrchrt.htm>
- Szabo, N., I. Tebbett. 2002. The chemistry and Toxicity of *Mucuna* Species. Ch 6. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Ukachukwu, S., I. Ezeagu, G. Tarawali, J. Ikcorgu. 2002. Utilization of *Mucuna* as Food and Feed in West Africa. Ch 9. En: Food and Feed from *Mucuna*: Current Uses and the Way Forward. Proceedings of an International Workshop. Flores, M., M. Eilittä, R. Myhrman, L. Carew, R. Carsky (Ed.). Centro Internacional de Información sobre Cultivos De Cobertura (CIDICCO), Litografía López, Honduras.
- Volk, W. (1969) Applied Statistics for Engineers. 2nd Edition. McGraw-Hill, New York. p 268.

VII. APÉNDICE

Métodos de cocción

Cuadro A1-1. Métodos secos

Muestra	Peso inicial	Peso húmedo	Peso final
Control	-----	-----	150.2
Vapor	284.3	287.2	256.2
Microondas	287.4	277.6	251.7

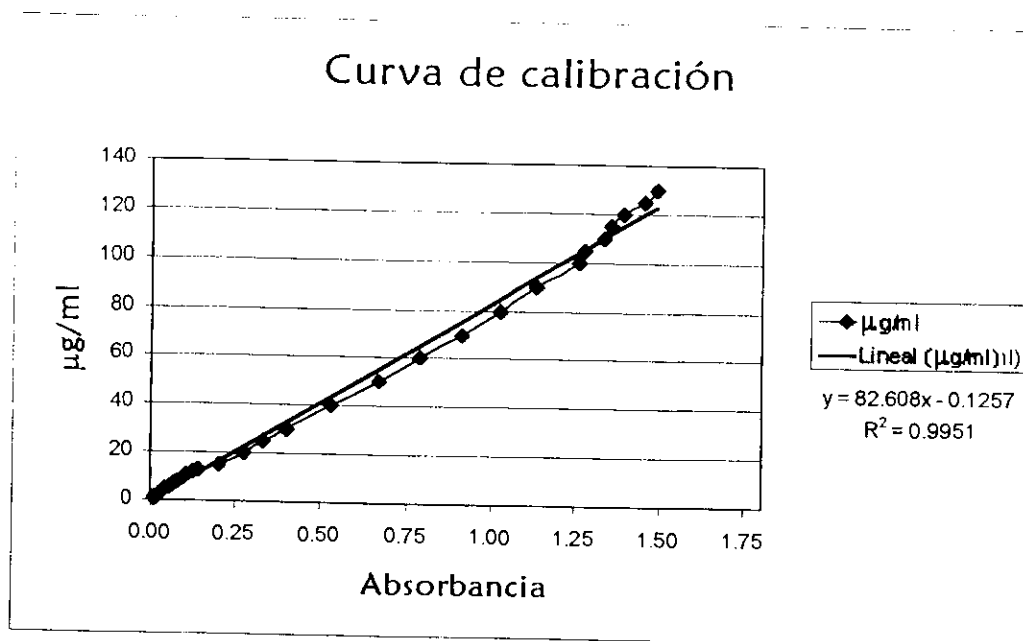
Cuadro A1-2. Métodos húmedos

Muestra	Peso inicial	Peso húmedo	Peso seco	Peso líquido	Residuo acuoso	%
pH7	217.0	1782.9	215.2	7.3	1.0	13.7
pH9 Ca(OH) ₂	144.7	296.5	124.0	5.3	0.7	13.2
pH11 Ca(OH) ₂	146.5	283.8	123.4	4.9	0.7	14.29
pH9 KOH	149.8	264.5	138.9	4.8	0.4	8.33
pH11 KOH	149.2	297.3	135.1	2.3	1.6	30.2
pH9 NaOH	142.7	288.1	125.8	5.2	0.1	1.92
pH11 NaOH	142.2	288.4	126.7	4.5	1.1	24.44
pH3	142.3	269.7	141.2	5.7	0.4	7.02
pH6	138.8	281.7	136.4	5.2	1.1	21.15

Cuadro A1-3. Segundo tratamiento

Tiempo de ebullición (minutos)	Volumen original de agua (mL)	Volumen aproximado final de agua (mL)
0	40	30-35
3	60	30-34
6	80	30-37

Grafica A1-1. Curva de calibración del espectrofotómetro.



Cálculo del porcentaje de L-Dopa

Para calcular el porcentaje de L-Dopa en una muestra, se utilizó una ecuación derivada de una curva de calibración realizada con diversas concentraciones de L-Dopa disuelta en una solución de etanol al 50% (ver curva de calibración).

$$\% \text{ de L - Dopa} = \left[\frac{100 \text{ mL} \times \left(\frac{(82.608 \times \text{Absorbancia} - 0.1257) \mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left(\frac{1 \text{ g}}{10^6 \mu\text{g}} \right)}{(\text{Peso original}) \text{ g}} \right] \times 100$$

$$\% \text{ de L - Dopa pH7} = \left[\frac{100 \text{ mL} \times \left(\frac{(82.608 \times 1.195 - 0.1257) \mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \left(\frac{1 \text{ g}}{10^6 \mu\text{g}} \right)}{0.2536 \text{ g}} \right] \times 100 = 3.8877\%$$

Cálculo del porcentaje de proteína

Para calcular el porcentaje de proteína se utilizó la ecuación sugerida en el método indicado en materiales y métodos, en la cual las conversiones y estequiometría se incluían en dos factores numéricos.

$$\% \text{ de proteína} = \left(\frac{\text{mL de HCl} \times \text{normalidad HCl} \times \text{factor N} \times \text{factor proteína}}{\text{Peso original}} \right) \times 100$$

$$\% \text{ de proteína pH7} = \left(\frac{4.9 \times 0.1 \times 0.014 \times 6.25}{0.2017} \right) \times 100 = 21.2568\%$$

Cuadro A1-4. Contenido de L-Dopa en las muestras después del primer tratamiento

Muestra	Peso original	Absorbancia	Diluido	% L-DOPA	Promedio
Control	0.2522	0.370	Si (20%)	6.0347	6.0875
	0.2515	0.382	Si (20%)	6.2486	
	0.2504	0.364	Si (20%)	5.9792	
Vapor	0.2521	0.379	Si (20%)	6.1846	6.3712
	0.2543	0.393	Si (20%)	6.3585	
	0.2549	0.407	Si (20%)	6.5704	
Microondas	0.2509	0.350	Si (20%)	5.7368	6.3582
	0.2535	0.406	Si (20%)	6.5904	
	0.2525	0.414	Si (20%)	6.7473	
pH7	0.2536	1.195	No	3.8877	3.9612
	0.2527	1.205	No	3.9342	
	0.2529	1.245	No	4.0617	
Ca(OH) ₂ pH9	0.2508	1.195	No	3.9311	3.8691
	0.2512	1.155	No	3.7933	
	0.2539	1.195	No	3.8831	
Ca(OH) ₂ pH11	0.2523	1.190	No	3.8913	3.8856
	0.2549	1.205	No	3.9002	
	0.2508	1.175	No	3.8652	
KOH pH9	0.2512	1.390	No	4.5661	4.4446
	0.2539	1.365	No	4.4362	
	0.2505	1.315	No	4.3315	
KOH pH11	0.2541	1.310	No	4.2539	4.3922
	0.2551	1.380	No	4.4639	
	0.2526	1.365	No	4.4590	
NaOH pH9	0.2536	1.125	No	3.6596	3.7663
	0.2516	1.165	No	3.8201	
	0.2549	1.180	No	3.8192	
NaOH pH11	0.2540	1.105	No	3.5888	3.8261
	0.2513	1.195	No	3.9232	
	0.2517	1.210	No	3.9662	
HCl pH3	0.2528	1.295	No	4.2267	4.1509
	0.2528	1.215	No	3.9653	
	0.2537	1.310	No	4.2606	
HCl pH6	0.2546	1.235	No	4.0022	4.0460
	0.2537	1.215	No	3.9512	
	0.2514	1.275	No	4.1845	

Cuadro A1-5. Contenido de proteína de las muestras después del primer tratamiento

Muestra	Peso Original	mL HCl 0.1N	% Proteína	Promedio
Control	0.2048	5.4	23.0713	22.8129
	0.2057	5.3	22.5450	
	0.2032	5.3	22.8223	
Vapor	0.2032	5.3	22.8223	23.0715
	0.2038	5.3	22.7552	
	0.2036	5.5	23.6370	
Microondas	0.2034	5.6	24.0905	23.2877
	0.2061	5.3	22.5012	
	0.2068	5.5	23.2713	
pH7	0.2017	4.9	21.2568	21.8560
	0.2002	5.0	21.8531	
	0.2026	5.2	22.4580	
Ca(OH) ₂ pH9	0.2043	5.2	22.2712	22.3977
	0.2050	5.0	21.3415	
	0.2078	5.6	23.5804	
Ca(OH) ₂ pH11	0.2222	5.7	22.4460	22.8019
	0.2030	5.3	22.8448	
	0.2082	5.5	23.1148	
KOH pH9	0.2009	5.2	22.6481	22.1855
	0.2055	5.3	22.5669	
	0.2091	5.1	21.3415	
KOH pH11	0.2068	5.6	23.6944	23.3713
	0.2079	5.5	23.1481	
	0.2068	5.5	23.2713	
NaOH pH9	0.2029	5.3	22.8561	22.0050
	0.2032	5.4	23.2530	
	0.2022	4.6	19.9060	
NaOH pH11	0.2036	5.2	22.3477	21.6074
	0.2002	4.9	21.4161	
	0.2036	4.9	21.0584	
HCl pH3	0.2009	5.0	21.7770	20.8593
	0.2091	4.5	18.8307	
	0.2071	5.2	21.9701	
HCl pH6	0.2007	4.6	20.0548	20.5670
	0.2068	4.7	19.8864	
	0.2091	5.2	21.7599	

Cuadro A1-6. Reducción de masa de las muestras una vez secadas, después del segundo tratamiento

Muestra	Peso inicial (g)	Tiempo de ebullición (min)	Peso final (g)	% pérdida	Promedio
Control 2	4.0031	0	2.6497	33.81	33.92
	4.0573		2.6758	34.05	
	4.0407		2.6708	33.90	
	4.0279	3	3.6404	9.62	18.93
	4.0088		3.3639	16.09	
	4.0361		2.7819	31.07	
	4.0410	6	2.9652	26.62	30.18
	4.0061		2.8662	28.45	
	4.0123		2.5891	35.47	
Vapor	4.0288	0	2.9224	27.46	24.58
	4.0245		3.0109	25.19	
	4.0787		3.2184	21.09	
	4.0677	3	3.1889	21.60	20.25
	4.0111		3.2163	19.82	
	4.0414		3.2596	19.34	
	4.0055	6	3.6657	8.48	11.65
	4.0180		3.8009	5.40	
	4.0454		3.1936	21.06	
Microondas	4.0484	0	3.6732	9.27	14.41
	4.0249		3.4785	13.58	
	4.0043		3.1875	20.40	
	4.0314	3	3.1997	20.63	24.37
	4.0774		2.9976	26.48	
	4.0506		2.9976	26.00	
	4.0091	6	3.0453	24.04	25.56
	4.0200		3.0101	25.12	
	4.0477		2.9340	27.51	
pH7	3.8923	0	3.3541	13.83	5.84
	3.8162		3.7366	2.09	
	3.9349		3.8713	1.62	
	3.8825	3	3.1265	19.47	19.32
	3.9518		3.1326	20.73	
	3.9381		3.2388	17.76	
	3.8796	6	3.1232	19.50	19.21
	3.9183		3.2854	16.15	
	3.8483		3.0022	21.99	
Ca(OH) ₂ pH9	4.0440	0	3.1954	20.98	20.30
	4.0030		3.2966	17.65	
	4.0045		3.1127	22.27	
	4.0053	3	3.0300	24.35	24.73
	4.0064		3.0223	24.56	
	4.0061		2.9937	25.27	
	4.0032	6	3.1128	22.24	22.42
	4.0082		3.1186	22.19	
	4.0021		3.0887	22.82	

Cuadro A1-6. Continúa...

Muestra	Peso inicial (g)	Tiempo de ebullición (min)	Peso final (g)	% pérdida	Promedio
Ca(OH) ₂ pH11	4.0088	0	3.1598	21.18	21.82
	4.0088		3.3265	17.02	
	4.0098		2.9162	27.27	
	4.0077	3	3.0806	23.13	24.06
	4.0091		3.0551	23.80	
	4.0083		2.9957	25.26	
	4.0073	6	3.0677	23.45	22.85
	4.0018		3.0981	22.58	
4.0038	3.1023		22.52		
KOH pH9	4.0054	0	3.1663	20.95	19.40
	4.0056		3.2929	17.79	
	4.0091		3.2292	19.45	
	4.0088	3	3.0310	24.39	26.15
	4.0080		2.9066	27.48	
	4.0028		2.9394	26.57	
	4.0012	6	3.0905	22.76	23.54
	4.0065		3.1138	22.28	
4.0024	2.9790		25.57		
KOH pH11	4.0060	0	3.2056	19.98	20.86
	4.0083		3.2876	17.98	
	4.0044		3.0182	24.63	
	4.0014	3	2.8715	28.24	28.35
	4.0044		2.8660	28.43	
	4.0060		2.8691	28.38	
	4.0052	6	3.0748	23.23	23.69
	4.0064		3.0418	24.08	
4.0004	3.0502		23.75		
NaOH pH9	4.0085	0	3.1183	22.21	22.17
	4.0033		3.1678	20.87	
	4.0093		3.0696	23.44	
	4.0006	3	3.0410	23.99	23.09
	4.0052		3.1000	22.60	
	4.0025		3.0946	22.68	
	4.0049	6	3.2355	19.21	20.73
	4.0004		3.0977	22.57	
4.0037	3.1862		20.42		
NaOH pH11	4.0067	0	3.0555	23.74	22.77
	4.0093		3.1957	20.29	
	4.0094		3.0358	24.28	
	4.0058	3	3.1190	22.14	22.35
	4.0081		3.0641	23.55	
	4.0020		3.1470	21.36	
	4.0017	6	3.1029	22.46	20.71
	4.0073		3.1315	21.86	
4.0010	3.2887		17.80		

Cuadro A1-6. Continúa...

Muestra	Peso inicial (g)	Tiempo de ebullición (min)	Peso final (g)	% pérdida	Promedio
HCl pH3	4.0074	0	3.1841	20.54	18.72
	4.0042		3.4710	13.32	
	4.0004		3.1083	22.30	
	4.0054	3	3.1752	20.73	21.20
	4.0001		3.1460	21.35	
	4.0045		3.1428	21.52	
	4.0050	6	3.1813	20.57	20.57
	4.0054		3.1724	20.80	
	4.0035		3.1884	20.36	
HCl pH6	4.0047	0	3.1259	21.94	21.72
	4.0039		3.1661	20.92	
	4.0055		3.1121	22.30	
	4.0007	3	3.0836	22.92	22.70
	4.0051		3.0335	24.26	
	4.0065		3.1682	20.92	
	4.0062	6	3.1305	21.86	22.33
	4.0070		3.1710	20.86	
	4.0030		3.0317	24.26	

Cuadro A1-7. Características de los líquidos de cocción del segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	mL originales (después del tratamiento)	Absorbancia	mg L-Dopa /mL	% sólidos
Control 2	0	33	1.125	0.0278	2.91
		35	1.140	0.0282	2.53
		35	1.150	0.0285	2.87
	3	10	0.996	0.9858	1.58
		12	1.014	0.8603	1.71
		13	1.110	0.8928	1.79
	6	11	1.165	0.0019	1.94
		12	1.160	0.0019	1.97
		15	1.245	0.0021	2.22
Vapor	0	35	1.670	0.0413	2.15
		35	1.740	0.0431	2.11
		35	1.740	0.0431	2.15
	3	9	1.018	1.1336	2.03
		12	1.090	0.9249	1.89
		11	1.085	0.9845	1.94
	6	64	0.802	0.0013	2.18
		60	0.860	0.0014	2.45
		35	1.170	0.0019	2.30

Cuadro A1-7. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	mL originales (después del tratamiento)	Absorbancia	mg L-Dopa /mL	% sólidos
Microondas	0	25	0.726	0.0180	2.07
		33	0.649	0.0160	2.14
		33	1.620	0.0401	2.01
	3	20	1.320	0.8713	1.52
		16	1.265	0.9109	1.59
		17	1.280	0.8977	1.53
	6	37	1.150	0.0019	1.38
		34	1.215	0.0020	1.40
		37	1.650	0.0027	2.35
pH7	0	33	0.902	0.0223	1.19
		28	0.956	0.0237	1.25
		32	0.948	0.0235	1.15
	3	12	0.740	0.5188	0.55
		17	0.824	0.5775	1.27
		18	0.800	0.5480	1.23
	6	31	0.716	0.0012	1.10
		32	0.736	0.0012	1.15
		35	0.667	0.0011	1.03
Ca(OH) ₂ pH9	0	31	0.890	0.0015	1.19
		32	0.882	0.0015	1.20
		32	0.890	0.0015	1.21
	3	32	0.962	0.0016	1.47
		31	0.960	0.0016	1.47
		34	0.902	0.0015	1.43
	6	37	0.858	0.0014	1.36
		38	0.818	0.0013	1.22
		37	0.820	0.0014	1.27
Ca(OH) ₂ pH11	0	32	0.848	0.0014	1.14
		33	0.856	0.0014	1.15
		32	0.872	0.0014	1.16
	3	31	0.866	0.0014	1.40
		34	0.828	0.0014	1.35
		29	0.970	0.0016	1.48
	6	37	0.802	0.0013	1.28
		34	0.868	0.0014	1.38
		37	0.822	0.0014	1.30
KOH pH9	0	31	0.900	0.0015	1.28
		32	0.900	0.0015	1.26
		31	0.918	0.0015	1.30
	3	30	1.006	0.0017	1.56
		32	0.958	0.0016	1.52
		30	1.028	0.0017	1.62
	6	34	0.918	0.0015	1.51
		32	0.980	0.0016	1.54
		37	0.858	0.0014	1.36

Cuadro A1-7. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	mL originales (después del tratamiento)	Absorbancia	mg L-Dopa /mL	% sólidos
KOH pH11	0	32	0.956	0.0016	1.34
		31	0.986	0.0016	1.37
		31	0.974	0.0016	1.38
	3	31	0.984	0.0016	1.61
		30	1.020	0.0017	1.64
		32	0.984	0.0016	1.60
	6	37	0.916	0.0015	1.46
		35	0.944	0.0016	1.51
		38	0.892	0.0015	1.41
NaOH pH9	0	31	0.852	0.0014	1.25
		31	0.875	0.0014	1.26
		31	0.885	0.0015	1.26
	3	31	0.900	0.0015	1.45
		31	0.900	0.0015	1.44
		28	1.000	0.0016	1.61
	6	33	0.830	0.0014	1.36
		30	0.873	0.0014	1.43
		35	0.805	0.0013	1.26
NaOH pH11	0	31	0.884	0.0015	1.27
		32	0.877	0.0014	1.27
		32	0.886	0.0015	1.28
	3	31	0.864	0.0014	1.41
		32	0.914	0.0015	1.46
		29	0.989	0.0016	1.57
	6	37	0.793	0.0013	1.23
		34	0.832	0.0014	1.36
		38	0.772	0.0013	1.24
HCl pH3	0	31	0.852	0.0014	1.30
		29	0.926	0.0015	1.39
		29	0.904	0.0015	1.38
	3	26	0.846	0.0014	1.35
		21	0.918	0.0015	1.52
		30	0.828	0.0014	1.29
	6	33	0.770	0.0013	1.22
		31	0.758	0.0012	1.24
		35	0.744	0.0012	1.14
HCl pH6	0	29	0.864	0.0014	1.29
		30	0.880	0.0015	1.25
		29	0.880	0.0015	1.21
	3	27	0.820	0.0014	1.26
		23	0.905	0.0015	1.42
		30	0.820	0.0014	1.25
	6	35	0.672	0.0011	1.05
		33	0.704	0.0012	1.12
		35	0.694	0.0011	1.07

Cuadro A1-8. Contenido de L-Dopa de las muestras, después del segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
Control 2	0	0.2513	0.616	2.020	1.896
		0.2526	0.460	1.499	
		0.2575	0.635	2.032	
		0.2540	0.575	1.865	
		0.2579	0.685	2.189	
	3	0.2549	0.547	1.768	5.060
		0.2515	1.290	4.232	
		0.2332	1.008	3.565	
		0.2506	1.620	5.335	
		0.2545	1.160	3.760	
	6	0.2510	1.148	7.546	3.761
		0.2536	1.820	5.924	
		0.2551	0.956	3.091	
		0.2519	1.190	3.897	
		0.2553	0.960	3.101	
Vapor	0	0.2587	0.890	2.837	2.313
		0.2552	1.329	4.297	
		0.2570	1.663	5.341	
		0.2518	0.766	2.508	
		0.2545	0.892	2.890	
	3	0.2536	0.560	1.819	4.333
		0.2528	0.724	2.361	
		0.2570	0.746	2.393	
		0.2539	0.587	1.905	
		0.2572	1.115	3.576	
	6	0.2558	1.140	3.677	1.827
		0.2568	1.255	4.032	
		0.2515	1.590	5.218	
		0.2581	1.480	4.732	
		0.2581	1.490	4.764	
Microondas	0	0.2524	0.447	1.458	2.086
		0.2567	0.460	1.475	
		0.2531	0.588	1.914	
		0.2584	0.581	1.853	
		0.2557	0.728	2.347	
	3	0.2565	0.596	1.915	5.340
		0.2583	0.536	1.709	
		0.2510	0.720	2.365	
		0.2534	0.644	2.094	
		0.2546	0.602	1.948	
	6	0.2540	0.671	2.177	2.167
		0.2557	0.690	2.224	
		0.2563	1.470	4.733	
		0.2575	1.060	6.791	
		0.2571	1.670	5.361	
		0.2550	1.740	5.632	
		0.2570	1.270	4.077	
		0.2545	1.680	5.448	
		0.2546	0.623	2.016	
		0.2522	0.643	2.101	
		0.2535	0.737	2.397	
		0.2515	0.651	2.133	
		0.2551	0.704	2.275	
		0.2516	0.634	2.077	

Cuadro A1-8. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
pH7	0	0.2558	0.474	1.526	1.481
		0.2512	0.373	1.222	
		0.2591	0.398	1.264	
		0.2596	0.340	1.077	
		0.2533	0.421	1.368	
	3	0.2519	0.742	2.428	2.121
		0.2554	0.621	2.004	
		0.2522	0.667	2.180	
		0.2563	0.567	1.823	
		0.2520	0.472	1.542	
	6	0.2526	0.780	2.546	1.471
		0.2526	0.806	2.631	
		0.2559	0.572	1.842	
		0.2505	0.464	1.525	
		0.2521	0.475	1.551	
Ca(OH) ₂ pH9	0	0.2536	0.457	1.484	1.598
		0.2566	0.398	1.276	
		0.2513	0.351	1.149	
		0.2572	0.784	2.513	
		0.2588	0.478	1.521	
	3	0.2518	0.335	1.094	2.971
		0.2538	0.337	1.092	
		0.2551	0.524	1.692	
		0.2565	0.522	1.676	
		0.2525	0.582	1.899	
	6	0.2540	0.738	2.395	1.192
		0.2584	0.862	2.751	
		0.2562	1.135	3.655	
		0.2505	0.991	3.263	
		0.2583	1.210	3.865	
Ca(OH) ₂ pH11	0	0.2509	0.257	0.841	2.064
		0.2559	0.247	0.792	
		0.2582	0.329	1.048	
		0.2537	0.293	0.949	
		0.2534	0.472	1.534	
	3	0.2577	0.621	1.986	3.263
		0.2555	0.479	1.544	
		0.2585	0.806	2.571	
		0.2531	0.395	1.284	
		0.2581	0.380	1.211	
	6	0.2519	0.913	2.989	1.771
		0.2540	0.858	2.786	
		0.2580	0.557	1.779	
		0.2540	0.599	1.943	
		0.2506	0.986	3.245	
	0.2546	1.085	3.515		
	0.2507	1.590	5.234		
	0.2520	1.180	3.863		
	0.2539	0.517	1.677		
	0.2575	0.538	1.721		
	0.2510	0.441	1.446		
	0.2520	0.390	1.273		
	0.2530	0.513	1.670		
	0.2558	0.880	2.837		

Cuadro A1-8. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
KOH pH9	0	0.2567	0.862	2.769	2.564
		0.2508	0.846	2.782	
		0.2500	0.333	1.095	
		0.2533	0.540	1.756	
		0.2517	1.120	3.671	
	3	0.2537	1.018	3.310	2.847
		0.2563	0.778	2.503	
		0.2575	0.502	1.606	
		0.2527	0.716	2.336	
		0.2505	1.016	3.345	
	6	0.2506	1.320	4.346	1.565
		0.2527	0.902	2.944	
		0.2557	0.966	3.116	
		0.2504	0.497	1.635	
		0.2549	0.311	1.003	
KOH pH11	0	0.2564	0.354	1.136	2.307
		0.2567	0.444	1.424	
		0.2501	0.328	1.078	
		0.2533	1.014	3.302	
		0.2508	0.683	2.245	
	3	0.2549	0.357	1.152	3.833
		0.2501	0.355	1.168	
		0.2562	0.673	2.165	
		0.2643	1.220	3.808	
		0.2540	1.215	3.947	
	6	0.2536	1.390	4.523	1.278
		0.2509	0.994	3.268	
		0.2566	0.956	3.073	
		0.2557	1.570	5.067	
		0.2548	0.964	3.120	
NaOH pH9	0	0.2541	0.290	0.938	2.900
		0.2522	0.426	1.390	
		0.2562	0.464	1.491	
		0.2500	0.323	1.062	
		0.2507	0.467	1.534	
	3	0.2550	0.389	1.255	2.897
		0.2510	0.446	1.463	
		0.2581	0.812	2.594	
		0.2589	1.000	3.186	
		0.2543	1.060	3.438	
	6	0.2587	1.085	3.460	1.638
		0.2507	0.990	3.257	
		0.2506	0.319	1.047	
		0.2519	1.050	3.438	
		0.2565	1.375	4.423	
6	0.2573	1.130	3.623	1.638	
	0.2537	0.515	1.672		
	0.2541	0.980	3.181		
	0.2563	0.529	1.700		
	0.2523	0.469	1.531		
6	0.2505	0.445	1.462	1.638	
	0.2526	0.509	1.660		
	0.2505	0.652	2.145		
		0.2581	0.418	1.333	

Cuadro A1-8. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
NaOH pH11	0	0.2504	0.906	2.984	2.960
		0.2543	0.750	2.431	
		0.2560	0.949	3.057	
		0.2573	1.125	3.607	
		0.2571	0.906	2.906	
	3	0.2568	0.864	2.774	1.832
		0.2515	0.320	1.046	
		0.2532	0.425	1.382	
		0.2528	0.568	1.851	
		0.2590	1.046	3.331	
	6	0.2520	0.704	2.303	2.084
		0.2529	0.332	1.079	
		0.2520	0.539	1.762	
		0.2512	0.607	1.991	
		0.2534	0.974	3.170	
HCl pH3	0	0.2534	0.504	1.638	1.971
		0.2580	0.527	1.683	
		0.2585	0.708	2.258	
		0.2593	0.669	2.126	
		0.2535	0.692	2.250	
	3	0.2513	0.540	1.770	1.991
		0.2524	0.580	1.893	
		0.2532	0.542	1.763	
		0.2564	0.630	2.025	
		0.2526	0.750	2.448	
	6	0.2536	1.034	3.363	1.374
		0.2545	0.601	1.946	
		0.2502	0.538	1.771	
		0.2644	0.350	1.089	
		0.2506	0.404	1.327	
HCl pH6	0	0.2566	0.635	2.039	1.870
		0.2502	0.320	1.052	
		0.2588	0.405	1.288	
		0.2565	0.382	1.225	
		0.2534	0.382	1.240	
	3	0.2529	0.430	1.400	1.833
		0.2614	0.569	1.793	
		0.2553	0.549	1.771	
		0.2572	0.581	1.861	
		0.2563	0.642	2.064	
	6	0.2547	0.670	2.168	1.470
		0.2540	0.481	1.559	
		0.2530	0.876	2.855	
		0.2502	0.531	1.748	
		0.2526	0.440	1.434	
6	0.2554	0.487	1.570	1.470	
	0.2500	0.505	1.664		
	0.2522	0.528	1.724		
	0.2525	0.672	2.194		
	0.2575	0.454	1.452		
6	0.2597	0.378	1.198	1.470	
	0.2537	0.333	1.079		
	0.2533	0.361	1.172		
	0.2555	0.536	1.728		
	0.2533	0.361	1.172		

Cuadro A1-9. Contenido de proteína de las muestras después del segundo tratamiento

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso Original	mL HCl 0.1N	% Proteína	Promedio
Control 2	0	0.2581	4.65	15.2557	13.5867
		0.2578	3.25	10.5217	
		0.2519	3.40	11.2892	
		0.2506	3.50	11.6969	
		0.2588	6.00	19.7788	
	3	0.2562	3.95	12.9781	25.1275
		0.2503	6.45	22.0236	
		0.2556	7.35	24.6479	
		0.2504	7.55	25.8586	
		0.2518	7.60	25.8886	
	6	0.2266	6.90	26.0647	24.7716
		0.2497	7.65	26.2815	
		0.2489	6.35	21.7959	
		0.2588	7.25	24.0050	
		0.2551	6.75	22.6382	
Vapor	0	0.2481	7.20	24.8640	17.6007
		0.2510	8.30	28.4114	
		0.2552	8.00	26.9152	
		0.2518	4.35	14.5949	
		0.2555	5.40	17.9795	
	3	0.2512	5.60	18.9839	22.3755
		0.2596	5.65	18.5381	
		0.2511	5.15	17.4233	
		0.2516	5.35	18.0843	
		0.2407	6.00	21.2661	
	6	0.2528	6.85	23.1903	25.1229
		0.2510	6.20	21.0906	
		0.2511	7.00	23.8700	
		0.2518	6.60	22.4136	
		0.2517	6.60	22.4225	
Microondas	0	0.2545	7.55	25.4420	22.8224
		0.2510	7.75	26.4940	
		0.2564	7.35	24.5710	
		0.2583	7.25	24.0515	
		0.2586	6.35	20.9783	
	3	0.2592	8.80	29.2004	27.8120
		0.2541	6.15	20.6612	
		0.2524	6.10	20.6270	
		0.2574	5.20	17.1669	
		0.2560	8.75	29.3945	
	6	0.2514	8.60	29.4103	25.6398
		0.2535	5.85	19.6746	
		0.2545	8.60	29.0521	
		0.2471	8.30	28.8598	
		0.2594	8.50	28.1660	
6	0.2614	7.80	25.6073	25.6398	
	0.2516	8.15	27.8219		
	0.2590	8.25	27.3649		
	0.2529	7.45	25.2570		
	0.2550	7.40	24.8775		
6	0.2580	7.40	24.5882	25.6398	
	0.2590	7.60	25.1689		
	0.2536	8.20	27.7750		
6	0.2591	7.90	26.1723	25.6398	

Cuadro A1-9. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso Original	mL HCl 0.1N	% Proteína	Promedio
pH7	0	0.2529	8.75	29.7548	28.1911
		0.2505	8.75	30.0399	
		0.2502	8.20	28.1525	
		0.2540	8.15	27.5591	
		0.2516	7.80	26.6047	
	3	0.2573	8.10	27.0356	25.5286
		0.2588	7.35	24.3431	
		0.2512	7.25	24.7313	
		0.2504	7.85	26.9069	
		0.2565	7.60	25.4142	
	6	0.2568	8.05	26.9178	27.5954
		0.2552	7.40	24.8580	
		0.2509	7.95	27.2021	
		0.2556	8.05	27.0442	
		0.2505	8.05	27.5948	
Ca(OH) ₂ pH9	0	0.2534	8.15	27.6243	27.2937
		0.2504	8.40	28.8289	
		0.2502	7.95	27.2782	
		0.2527	8.60	29.2590	
		0.2512	8.35	28.5629	
	3	0.2554	7.75	26.0376	28.4658
		0.2549	7.90	26.6036	
		0.2552	7.60	25.5437	
		0.2522	8.15	27.7557	
		0.2509	8.45	28.9458	
	6	0.2515	9.15	31.3121	29.7463
		0.2578	8.05	26.8134	
		0.2544	9.15	30.9552	
		0.2541	7.80	26.3430	
		0.2500	7.70	26.4250	
Ca(OH) ₂ pH11	0	0.2542	8.70	29.4306	30.4437
		0.2551	9.35	31.5563	
		0.2516	9.30	31.8213	
		0.2538	8.70	29.4770	
		0.2567	8.40	28.1213	
	3	0.2556	8.35	28.0712	30.7072
		0.2508	8.40	28.7829	
		0.2545	9.45	31.9745	
		0.2558	8.30	27.8782	
		0.2513	8.50	29.0738	
	6	0.2506	10.35	35.6145	28.7591
		0.2550	8.70	29.3382	
		0.2528	8.35	28.3821	
		0.2563	8.95	30.0429	
		0.2522	8.95	30.5313	
	0.2579	10.00	33.4190		
	0.2579	9.60	32.0618		
	0.2510	8.70	29.8058		
	0.2571	8.95	29.9494		
	0.2565	8.00	26.7788		
	0.2567	8.30	27.7805		
	0.2550	8.30	27.9657		
	0.2510	9.75	33.4661		
		0.2548	7.90	26.6140	

Cuadro A1-9. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso Original	mL HCl 0.1N	% Proteína	Promedio
KOH pH9	0	0.2511	8.60	29.4454	30.8478
		0.2538	7.75	26.2017	
		0.2531	8.40	28.5213	
		0.2529	9.75	33.2147	
		0.2581	9.95	33.2236	
	3	0.2525	10.10	34.4802	28.9989
		0.2574	8.90	29.7446	
		0.2503	8.25	28.3160	
		0.2566	10.15	34.0998	
		0.2523	7.25	24.6235	
	6	0.2525	8.05	27.3762	26.4880
		0.2537	8.80	29.8335	
		0.2530	7.35	24.9012	
		0.2513	8.25	28.2033	
		0.2562	8.10	27.1516	
KOH pH11	0	0.2551	8.25	27.7832	30.6286
		0.2516	7.95	27.1264	
		0.2504	6.95	23.7620	
		0.2538	9.10	30.8560	
		0.2582	9.00	29.9913	
	3	0.2576	8.10	27.0041	29.8883
		0.2518	9.05	30.9273	
		0.2532	9.60	32.6570	
		0.2503	9.40	32.3362	
		0.2564	8.35	27.9836	
	6	0.2518	8.20	27.9736	28.2827
		0.2522	8.40	28.6231	
		0.2503	9.05	31.1127	
		0.2589	10.25	34.1348	
		0.2521	8.65	29.5022	
NaOH pH9	0	0.2517	8.55	29.2014	29.1855
		0.2503	8.70	29.8891	
		0.2500	8.00	27.4750	
		0.2518	8.15	27.7998	
		0.2504	8.05	27.6058	
	3	0.2509	8.10	27.7252	27.9245
		0.2557	7.05	23.6117	
		0.2532	10.00	34.0393	
		0.2534	8.85	30.0414	
		0.2501	9.50	32.7119	
	6	0.2505	8.10	27.7695	28.1384
		0.2501	7.85	26.9392	
		0.2568	8.20	27.4289	
		0.2532	8.90	30.2380	
		0.2566	7.95	26.5978	
	0.2545	8.95	30.2554		
	0.2545	7.80	26.3016		
	0.2521	7.85	26.7255		
	0.2542	8.80	29.7748		
	0.2510	8.20	28.0627		
	0.2520	7.80	26.5625		
	0.2530	7.85	26.6304		
	0.2503	8.40	28.8404		
		0.2538	8.55	28.9598	

Cuadro A1-9. Continúa...

Muestra	Tiempo de ebullición (min)	Peso Original	mL HCl 0.1N	% Proteína	Promedio
NaOH pH11	0	0.2518	7.75	26.4098	28.4502
		0.2516	8.30	28.3436	
		0.2585	8.85	29.4487	
		0.2569	8.60	28.7807	
		0.2526	8.90	30.3098	
	3	0.2538	8.10	27.4084	27.6978
		0.2528	7.85	26.6515	
		0.2511	7.90	27.0062	
		0.2545	8.80	29.7397	
		0.2564	7.50	25.0829	
	6	0.2559	8.85	29.7479	28.1519
		0.2535	8.25	27.9586	
		0.2509	8.95	30.6895	
		0.2506	7.55	25.8380	
		0.2557	7.85	26.3492	
HCl pH3	0	0.2509	8.95	30.6895	29.5443
		0.2566	8.50	28.4733	
		0.2569	8.50	28.4401	
		0.2562	9.05	30.3962	
		0.2548	9.45	31.9368	
	3	0.2513	8.60	29.4220	27.9211
		0.2526	7.95	27.0190	
		0.2504	8.75	30.0519	
		0.2514	8.80	30.1064	
		0.2517	8.60	29.3752	
	6	0.2572	6.10	20.2420	29.1436
		0.2576	8.50	28.3628	
		0.2567	8.70	29.1439	
		0.2556	9.00	30.2964	
		0.2502	8.90	30.6005	
HCl pH6	0	0.2542	8.60	29.0863	28.7379
		0.2594	8.60	28.5033	
		0.2531	8.40	28.5213	
		0.2538	8.50	28.7874	
		0.2533	8.65	29.3624	
	3	0.2522	8.10	27.5823	29.9080
		0.2591	8.40	27.8609	
		0.2539	9.10	30.8438	
		0.2504	8.00	27.4311	
		0.2532	8.60	29.2012	
	6	0.2565	8.80	29.5078	28.3532
		0.2512	8.70	29.7820	
		0.2559	9.80	32.9963	
		0.2519	8.85	30.2203	
		0.2574	8.60	28.7247	
6	0.2568	8.65	28.9622	28.3532	
	0.2525	8.45	28.7624		
	0.2533	8.45	28.6715		
	0.2529	8.60	29.2359		
	0.2501	8.20	28.1637		
6	0.2517	8.30	28.3323	28.3532	
	0.2551	8.15	27.4402		
	0.2553	8.40	28.2756		

Cuadro A2-1. Descripción de las muestras

Muestra	Color	Peso Prom. (g)	Tamaño Prom. (mm)
1A	Negro	0.98760	15.24
2A	Negro	0.96172	14.40
3A	Negro	0.87072	13.68
4A	Negro	0.66344	12.58
1B	Negro	1.54006	16.98
2B	Negro	1.01448	15.74
3B	Negro	0.74746	14.20
4B	Negro	0.59598	12.64
1C	Beige	1.37864	16.86
2C	Beige	1.20418	15.58
3C	Beige	0.94778	14.68
4C	Beige	0.73384	12.98

Cuadro A2-2. Humedad de las muestras crudas

Muestra	Peso húmedo	Peso seco	% de agua	Promedios
1A	2.0387	1.8693	8.3092	8.592
	2.0633	1.8802	8.8741	
2A	2.0063	1.8381	8.3836	8.496
	2.0098	1.8368	8.6078	
3A	2.0385	1.8687	8.3297	8.334
	2.0124	1.8446	8.3383	
4A	2.0172	1.8501	8.2838	8.196
	2.0089	1.8460	8.1089	
1B	2.0474	1.8628	9.0163	9.052
	2.0082	1.8257	9.0877	
2B	2.0297	1.8451	9.0949	9.096
	2.0281	1.8436	9.0972	
3B	2.0282	1.8461	8.9784	9.071
	2.0329	1.8466	9.1642	
4B	2.0083	1.8249	9.1321	9.090
	2.0468	1.8616	9.0483	
1C	2.0107	1.8373	8.6239	8.604
	2.0920	1.9124	8.5851	
2C	2.0932	1.9153	8.4989	8.564
	2.0491	1.8723	8.6282	
3C	2.0568	1.8779	8.6980	8.696
	2.0381	1.8609	8.6944	
4C	2.0440	1.8640	8.8063	8.943
	2.0584	1.8715	9.0799	

Cuadro A2-3. Contenido de L-Dopa de las muestras crudas, base húmeda.

Muestra	Peso original (g)	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
1A	0.251	1.145	3.7634	3.6351
	0.252	1.070	3.5067	
2A	0.253	1.000	3.2615	3.4591
	0.254	1.125	3.6567	
3A	0.254	0.926	3.0090	3.2196
	0.253	1.050	3.4302	
4A	0.252	0.874	2.8589	3.0266
	0.255	0.986	3.1943	
1B	0.253	1.490	4.8678	4.6758
	0.251	1.365	4.4838	
2B	0.255	1.590	5.1479	4.9837
	0.252	1.470	4.8195	
3B	0.253	1.380	4.5027	4.7304
	0.253	1.520	4.9580	
4B	0.250	1.355	4.4688	4.4075
	0.253	1.330	4.3463	
1C	0.251	1.450	4.7767	4.4243
	0.254	1.255	4.0719	
2C	0.255	0.894	2.8946	3.8366
	0.250	1.450	4.7786	
3C	0.254	1.160	3.7692	4.0055
	0.252	1.295	4.2418	
4C	0.253	0.918	2.9984	3.3249
	0.252	1.115	3.6515	

Cuadro A2-4. Contenido de L-Dopa según tamaño de semilla, base húmeda.

Muestra	Peso por semilla (g)	Largo por semilla (mm)	% L-Dopa
1A	0.9818	15.2	3.6351
2A	0.9617	14.4	3.4591
3A	0.8707	13.7	3.2196
4A	0.6634	12.6	3.0266
1B	1.5401	17.0	4.6758
2B	1.0145	15.7	4.9837
3B	0.7475	14.2	4.7304
4B	0.5960	12.6	4.4075
1C	1.3786	16.9	4.4243
2C	1.2042	15.6	3.8366
3C	0.9478	14.7	4.0055
4C	0.7338	13.0	3.3249

Cuadro A2-5. Contenido de L-Dopa de las muestras crudas, base seca.

Muestra	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio
1A	0.2294	1.255	4.5131	4.6415
	0.2301	1.330	4.7699	
2A	0.2314	0.916	3.2644	3.5112
	0.2322	1.058	3.7579	
3A	0.2326	1.004	3.5596	3.4866
	0.2315	0.958	3.4137	
4A	0.2314	0.888	3.1642	3.2405
	0.2337	0.940	3.3169	
1B	0.2297	1.340	4.8129	5.2602
	0.2285	1.580	5.7075	
2B	0.2317	1.370	4.8787	5.0000
	0.2288	1.420	5.1213	
3B	0.2300	1.410	5.0597	5.2562
	0.2300	1.520	5.4527	
4B	0.2275	1.285	4.6614	4.6311
	0.2295	1.280	4.6009	
1C	0.2289	1.520	5.4790	5.4558
	0.2324	1.530	5.4326	
2C	0.2329	1.540	5.4571	5.4860
	0.2290	1.530	5.5148	
3C	0.2318	1.340	4.7696	4.8155
	0.2300	1.355	4.8613	
4C	0.2312	0.996	3.5534	3.4414
	0.2294	0.926	3.3295	

Cuadro A2-6. Contenido de L-Dopa según tamaño de semilla, base seca.

Muestra	Peso por semilla (g)	Largo por semilla (mm)	% L-Dopa
1A	0.9818	15.2	4.6415
2A	0.9617	14.4	3.5112
3A	0.8707	13.7	3.4866
4A	0.6634	12.6	3.2405
1B	1.5401	17.0	5.2602
2B	1.0145	15.7	5.0000
3B	0.7475	14.2	5.2562
4B	0.5960	12.6	4.6311
1C	1.3786	16.9	5.4558
2C	1.2042	15.6	5.4860
3C	0.9478	14.7	4.8155
4C	0.7338	13.0	3.4414

Cuadro A2-7. Pérdida de peso de la muestra después del tratamiento

Muestra	Peso original	Peso final	% Diferencia	Promedios
1A	10.0575	9.2198	8.3291	9.058
	10.0520	9.0682	9.7871	
2A	10.6401	9.5026	10.6907	10.454
	9.9391	8.9235	10.2182	
3A	10.2995	9.2940	9.7626	9.901
	10.3546	9.3150	10.0400	
4A	10.7078	9.5934	10.4074	10.590
	10.1149	9.0253	10.7722	
1B	10.4906	9.5729	8.7478	9.093
	10.5274	9.5339	9.4373	
2B	10.5953	9.5853	9.5325	9.380
	10.3667	9.4102	9.2267	
3B	10.7626	9.5869	10.9239	10.216
	10.6384	9.6269	9.5080	
4B	10.6762	9.6121	9.9670	9.879
	10.8474	9.7854	9.7904	
1C	10.1183	9.4597	6.5090	6.330
	10.7863	10.1229	6.1504	
2C	10.0564	9.4020	6.5073	6.651
	10.8325	10.0965	6.7944	
3C	10.7606	9.8612	8.3583	8.577
	10.3128	9.4058	8.7949	
4C	10.1051	9.0773	10.1711	9.487
	10.6824	9.7420	8.8033	

Cuadro A2-8. L-Dopa en las muestras después del tratamiento

Muestra	Peso original	Absorbancia	% L-DOPA	Promedio	Promedio por Tamaño
A1	0.2545	1.255	4.0687	4.1997	4.3341
	0.2534	1.330	4.3308		
	0.2543	1.550	5.0301	4.4685	
	0.2513	1.190	3.9068		
2A	0.2571	0.916	2.9383	3.1631	3.4362
	0.2576	1.058	3.3879		
	0.2547	1.155	3.7411	3.7092	
	0.2535	1.130	3.6774		
3A	0.2513	1.004	3.2954	3.2216	3.4079
	0.2510	0.958	3.1479		
	0.2568	1.036	3.3277	3.5941	
	0.2511	1.175	3.8606		
4A	0.2553	0.888	2.8684	2.9785	3.0256
	0.2510	0.940	3.0887		
	0.2535	0.848	2.7584	3.0728	
	0.2523	1.036	3.3871		
1B	0.2593	1.340	4.2641	4.7050	4.7737
	0.2534	1.580	5.1458		
	0.2588	1.540	4.9108	4.8424	
	0.2541	1.470	4.7740		
2B	0.2537	1.370	4.4559	4.5104	4.5214
	0.2567	1.420	4.5648		
	0.2538	1.350	4.3891	4.5325	
	0.2506	1.420	4.6759		
3B	0.2514	1.410	4.6281	4.8019	4.7816
	0.2521	1.520	4.9757		
	0.2582	1.470	4.6982	4.7612	
	0.2566	1.500	4.8241		
4B	0.2505	1.285	4.2326	4.2126	3.9895
	0.2519	1.280	4.1926		
	0.2560	1.110	3.5769	3.7664	
	0.2534	1.215	3.9559		
1C	0.2546	1.520	4.9269	4.9228	4.7672
	0.2567	1.530	4.9188		
	0.2536	1.285	4.1808	4.6117	
	0.2504	1.530	5.0425		
2C	0.2577	1.540	4.9317	4.9592	4.9051
	0.2532	1.530	4.9868		
	0.2513	1.570	5.1559	4.8509	
	0.2505	1.380	4.5458		
3C	0.2544	1.340	4.3463	4.3767	4.0379
	0.2537	1.355	4.4071		
	0.2515	1.042	3.4176	3.6991	
	0.2539	1.225	3.9807		
4C	0.2524	0.996	3.2548	3.1325	3.7749
	0.2537	0.926	3.0102		
	0.2526	1.175	3.8376	4.4172	
	0.2560	1.550	4.9967		

Cuadro A2-9. Líquidos de cocción, Muestra A

Cocción	Vol. final (ml)	Absorbancia	mg L-Dopa/mL	% Sólidos	% Ceniza
1A1					
Remojo*	69	0.063	0.0005	0.0572	0.0242
Primera cocción	61	0.934	0.0077	0.2205	0.0658
Segunda cocción	63	1.240	0.0102	0.2520	0.0613
Tercera cocción	57	1.265	0.0104	0.2791	0.0718
1A2					
Remojo*	62	0.056	0.0005	0.0829	0.0488
Primera cocción	41	1.900	0.0157	0.4196	0.0907
Segunda cocción	45	1.840	0.0152	0.4588	0.0740
Tercera cocción	51	1.500	0.0124	0.3496	0.0775
2A1					
Remojo*	68	0.063	0.0005	0.0926	0.0439
Primera cocción	40	0.964	0.0199	0.5546	0.1083
Segunda cocción	56	1.800	0.0149	0.4283	0.0835
Tercera cocción	58	1.470	0.0121	0.3999	0.0600
2A2					
Remojo*	71	0.046	0.0004	0.0673	0.0279
Primera cocción	57	1.510	0.0125	0.5546	0.0682
Segunda cocción	63	1.490	0.0123	0.3606	0.0786
Tercera cocción	46	1.640	0.0135	0.4175	0.0868
3A1					
Remojo	91	0.053	0.0004	0.0391	0.0362
Primera cocción	48	0.856	0.0176	0.4454	0.1074
Segunda cocción	72	1.140	0.0094	0.2463	0.0539
Tercera cocción	72	0.878	0.0072	0.1999	0.0517
3A2					
Remojo	90	0.083	0.0007	0.0454	0.0212
Primera cocción	59	1.600	0.0132	0.3264	0.0806
Segunda cocción	68	1.210	0.0100	0.2620	0.0520
Tercera cocción	71	0.942	0.0078	0.2290	0.0466
4A1					
Remojo	91	0.055	0.0004	0.0595	0.0390
Primera cocción	56	1.780	0.0147	0.3968	0.0739
Segunda cocción	59	1.480	0.0122	0.3594	0.0692
Tercera cocción	75	0.900	0.0074	0.3594	0.0611
4A2					
Remojo	91	0.025	0.0002	0.0727	0.0523
Primera cocción	32	1.022	0.0211	0.6447	0.1295
Segunda cocción	41	1.980	0.0163	0.4913	0.1002
Tercera cocción	39	1.660	0.0137	0.4538	0.0771

* Volumen inicial, 75mL, en las demás, 100mL

Cuadro A2-10. Líquidos de cocción, Muestra B

	Vol. final (ml)	Absorbancia	mg L-Dopa/mL	% Sólidos	% Ceniza
1B1					
Remojo	93	0.061	0.0005	0.0998	0.0409
Primera cocción	52	1.400	0.0116	0.2583	0.0623
Segunda cocción	51	1.560	0.0129	0.3119	0.0630
Tercera cocción	44	1.640	0.0135	0.3297	0.0775
1B2					
Remojo	91	0.092	0.0007	0.1167	0.0669
Primera cocción	43	1.900	0.0157	0.3499	0.0691
Segunda cocción	37	0.860	0.0177	0.4105	0.0728
Tercera cocción	35	0.860	0.0177	0.4396	0.0801
2B1					
Remojo	90	0.124	0.0010	0.1306	0.0496
Primera cocción	64	1.203	0.0099	0.2252	0.0404
Segunda cocción	53	1.700	0.0140	0.3421	0.0729
Tercera cocción	51	1.610	0.0133	0.3209	0.0691
2B2					
Remojo	90	0.059	0.0005	0.0797	0.0413
Primera cocción	62	1.235	0.0102	0.2553	0.0512
Segunda cocción	48	1.880	0.0155	0.3774	0.0728
Tercera cocción	51	1.650	0.0136	0.3630	0.0627
3B1					
Remojo	90	0.177	0.0014	0.1130	0.0359
Primera cocción	57	1.700	0.0140	0.3218	0.0624
Segunda cocción	48	0.930	0.0192	0.4850	0.0868
Tercera cocción	52	1.840	0.0152	0.4211	0.0833
3B2					
Remojo	91	0.396	0.0033	0.1519	0.0392
Primera cocción	63	1.265	0.0104	0.2464	0.0581
Segunda cocción	50	1.880	0.0155	0.3825	0.0782
Tercera cocción	53	1.840	0.0152	0.3668	0.0674
4B1					
Remojo	90	0.087	0.0007	0.0524	0.0313
Primera cocción	69	1.255	0.0104	0.1965	0.0491
Segunda cocción	49	1.028	0.0212	0.5392	0.0993
Tercera cocción	55	1.820	0.0150	0.3944	0.0638
4B2					
Remojo	90	0.100	0.0008	0.0704	0.0295
Primera cocción	71	1.125	0.0093	0.1822	0.0405
Segunda cocción	39	1.175	0.0242	0.6384	0.0990
Tercera cocción	55	1.820	0.0150	0.3982	0.0676

Cuadro A2-11. Líquidos de cocción, Muestra C

	Vol. final (ml)	Absorbancia	mg L-Dopa/mL	% Sólidos	% Ceniza
1C1					
Remojo	93	0.047	0.0004	0.0594	0.0402
Primera cocción	70	0.491	0.0040	0.0927	0.0407
Segunda cocción	38	1.820	0.0150	0.3785	0.0992
Tercera cocción	55	1.125	0.0093	0.2470	0.0543
1C2					
Remojo	93	0.036	0.0003	0.0582	0.0260
Primera cocción	68	0.461	0.0038	0.0898	0.0515
Segunda cocción	40	1.480	0.0122	0.3381	0.0754
Tercera cocción	57	1.070	0.0088	0.2367	0.0625
2C1					
Remojo	94	0.016	0.0001	0.0301	0.0212
Primera cocción	66	0.415	0.0034	0.1063	0.0333
Segunda cocción	58	1.030	0.0085	0.2438	0.0637
Tercera cocción	61	0.920	0.0076	0.2289	0.0572
2C2					
Remojo	94	0.032	0.0003	0.0532	0.0259
Primera cocción	69	0.509	0.0042	0.1244	0.0483
Segunda cocción	63	1.100	0.0091	0.2370	0.0688
Tercera cocción	63	1.030	0.0085	0.2466	0.0609
3C1					
Remojo	93	0.037	0.0003	0.0745	0.0257
Primera cocción	64	0.806	0.0066	0.2024	0.0488
Segunda cocción	60	1.145	0.0094	0.2990	0.0767
Tercera cocción	57	1.062	0.0088	0.2865	0.0649
3C2					
Remojo	91	0.032	0.0003	0.0702	0.0283
Primera cocción	53	1.145	0.0094	0.2844	0.0637
Segunda cocción	50	1.410	0.0116	0.4002	0.0735
Tercera cocción	45	1.390	0.0115	0.3977	0.0771
4C1					
Remojo	90	0.039	0.0003	0.0902	0.0302
Primera cocción	62	1.345	0.0111	0.3321	0.0636
Segunda cocción	56	1.460	0.0120	0.4326	0.0827
Tercera cocción	52	1.220	0.0101	0.3658	0.0664
4C2					
Remojo	91	0.048	0.0004	0.0805	0.0331
Primera cocción	50	1.410	0.0116	0.3438	0.0750
Segunda cocción	47	1.480	0.0122	0.4117	0.0793
Tercera cocción	50	1.490	0.0123	0.4315	0.0838