

# BEB 87

BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA

VOLUMEN 6

No. 3

SEPTIEMBRE 1987

## EDITORIAL

ARTICULOS ORIGINALES DE  
REVISION:  
UNA NECESIDAD PARA LOS  
ESTUDIOSOS DE LA CIENCIA

“Progreso que no se basa en tradición no es verdadero progreso, porque algo es lo que se progresa”

Miguel de Unamuno

En nuestro mundo actual vive un mayor número de científicos en comparación con todos los que han vivido en la historia de la humanidad. Además, nunca se había dedicado tanto dinero, a nivel mundial, como el que ahora se destina a promover la ciencia y sus aplicaciones. Las dos premisas anteriores permiten concluir que jamás se había vivido un avance tan impresionante de la ciencia, en la historia del hombre, como el que se está contemplando en el umbral del segundo milenio de nuestra cultura. No hay duda de que el avance de la ciencia se logra al estudiar la naturaleza con los instrumentos y la rígidas reglas del méto-

do científico y dicho avance llega a la comunidad científica a través de las publicaciones altamente especializadas donde se reportan los hallazgos originales y sus posibles alcances. Tampoco hay duda de que este paulatino pero inexorable avance, pequeñísimos pasos sin el menor reposo, enriquece al hombre y tiende a proporcionarle bienestar.

Un análisis de las ideas anteriores, incluyendo algunas cifras concretas disponibles, y aplicado a las ciencias biomédicas experimentales, en particular a la bioquímica, ubica a los estudiosos de la materia ante una realidad y un reto de enormes proporciones. Los siguientes datos son ilustrativos. En el año de 1985 se incluyeron en el Index Medicus 88 920 títulos de artículos publicados en 2546 diferentes revistas científicas, el número de artículos incluidos en relación con el metabolismo de los lípidos es una cifra muy cercana a un millar, así como 750 escritos en relación con las isoenzimas y en diabetes mellitus fueron 2126 artículos.

Ante la avalancha de información, los investigadores, profesores y expertos en comunicación han establecido un complejo sistema con la finalidad de facilitar la difusión de la ciencia y la permanente actualización de los estudiosos de la misma. El complejo sistema mencionado incluye:

# COMITE EDITORIAL

# INDICE



BEB 87 Vol. 6 Núm. 3 septiembre 1987

**ALFONSO CARÁBEZ TREJO**  
*Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México*

**GUILLERMO CARVAJAL**  
*Escuela Nacional de Ciencias Biológicas  
Instituto Politécnico Nacional*

**ALBERTO HAMABATA**  
*Centro de Investigación y Estudios Avanzados  
Instituto Politécnico Nacional*

**JESUS MANUEL LEON CAZARES**  
*Instituto de Fisiología Celular  
Universidad Nacional Autónoma de México*

**ENRIQUE PIÑA GARZA**  
*Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México*

**SERGIO SANCHEZ ESQUIVEL**  
*Instituto de Investigaciones Biomédicas  
Universidad Nacional Autónoma de México*

**COORDINADOR EDITORIAL  
YOLANDA SALDAÑA DE DELGADILLO**  
*Facultad de Medicina  
Universidad Nacional Autónoma de México*

### CORRESPONSALES

*Serafin Aguado (Morelia, Mich.), Ma. Dolores Alvarez Bruneliere (León, Gto.), Humberto Avila Rodriguez (Durango, Dgo.), Alberto Boveris (Buenos Aires, Argentina), Carlos Corredor (Cali, Colombia), Alfredo Delgado (Monterrey, N.L.), Manuel Escobar L. (Zacatecas, Zac), Jesús R. Garcilaso (Hermosillo, Son.), Ma. Cris-  
tina González de Mac Swiney, (Mérida, Yuc.), Ma. Guadalupe Oliva Ruiz (Tampico, Tamps.), Ma. Guadalupe Puga (Querétaro, Qro.), Héctor Reyes Leal (Ciudad Juárez, Chih.), José Alberto Rivera Brechu (México, D.F.), Jesús M. Rodríguez (San Luis Potosí, S.L.P.), Alba Marina Valdez de García (Guatemala, Guatemala, C.A.), Manuel Vázquez T. (Santo Domingo, República Dominicana).*



**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA  
Y TECNOLOGIA,**

**DR. HECTOR MAYAGOITIA DOMINGUEZ**  
*Director General*

**DR. JESUS GUZMAN GARCIA**  
*Director Adjunto de Desarrollo Científico*

## EDITORIAL

Artículos originales de revisión:  
una necesidad para los estudiosos  
de la ciencia. Enrique Piña Gar-  
za y Yolanda Saldaña Balmori .... 61

## ARTICULOS

Las sales de fosfato y calcio aso-  
ciadas con artropatías. Federico  
Fernández Gavarrón, Antonio J. Re-  
ginato y Joseph L. Rabinowitz ... 65

Endurecimiento del frijol: causas  
y naturaleza del fenómeno. Irma  
Bernal Lugo ..... 71

## OTRAS COMUNICACIONES

El ión hidrogeno y el equilibrio  
ácido básico. Cecilia I. Díaz V. 77

Conceptos de Bioquímica Odontoló-  
gica. Cecilia I. Díaz V. .... 78

INDICES DE REVISTAS 78

**BOLETIN DE EDUCACION BIOQUIMICA (BEB)** es una publicación trimestral editada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Registro en Trámite. Correspondencia: Y. Saldaña de Delgadillo. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina UNAM. Apdo. Postal 70159. Delegación Coyocacán. 04510 México, D.F.

1.- Una sistematización de la información, la cual abarca cuando menos, los siguientes rubros:

a) Bibliotecas especializadas, apoyadas por intrincados sistemas de cómputo y comunicación y

b) Publicaciones periódicas diseñadas para ofrecer, de manera organizada, los títulos —y a veces los resúmenes— de los reportes publicados recientemente por los investigadores en las revistas especializadas; dichas publicaciones periódicas se agrupan en dos tipos, el Index Medicus y el Current Contents. El primer tipo de publicaciones ofrece los títulos de las comunicaciones científicas aparecidos recientemente en cerca de 3000 revistas especializadas (en 1986), los títulos se ordenan y agrupan por temas y se ofrece un índice de autores. El Current Contents, de distribución semanal, copia los índices de las principales revistas de cada especialidad e incluye un índice de autores y sus direcciones, con el objeto de facilitar la solicitud de sobretiros.

2.- Un número creciente de cursos, conferencias y congresos.

3.- Un número cada vez mayor de libros; los cuales con mayor frecuencia son obsoletos, por el tiempo requerido para su publicación, y resultan caros, muy caros para el promedio de profesores latinoamericanos. La casa Technical Insights, de N. J., E.U.A., anuncia, para 1988, la aparición del libro "Polymerized Liposomes" con 200 páginas ¡a un costo de 900 (novecientos) dólares!

4.- La proliferación, a nivel internacional, de artículos originales de revisión o como lo escriben los estadounidenses, "state-of-the art reviews". Estos

pueden agruparse en dos modalidades: artículos extensos con 20 o más páginas impresas y también una extensa bibliografía, con 400 o más referencias; y artículos cortos con unas 5 páginas impresas y alrededor de 20 referencias. Los primeros aparecen en publicaciones como el el Anual Review of Biochemistry o el Physiological Review y los segundos se leen en revistas como el FASEB Journal o el Trends in Biochemical Sciences. Estos últimos artículos se escriben para ser comprendidos por quienes conocen la materia, aun cuando no sean expertos en el campo. Existe un tercer tipo de artículos originales de revisión, dedicados a ser comprendidos por las personas cultas en general; es el caso de aquellos comprendidos en el "Scientific American" en Estados Unidos o "La Recherche" en Francia.

De los cuatro recursos comentados el más económico y el que, a nivel internacional manifiesta mayor crecimiento, utilidad y aceptación es el último, y muy especialmente al referirse a los artículos cortos de revisión. Véanse algunos ejemplos. La publicación oficial de la "Federación of American Societies for Experimental Biology", el FASEB Journal, es considerada la publicación en idioma inglés dedicada a reportar investigación biológica original que tiene mayor circulación mundial (24 000 ejemplares de cada número de aparición mensual). A partir de junio de 1987, el FASEB Journal publicará -- además de las comunicaciones originales de investigación -- artículos originales de revisión. El grupo de revistas denominadas genéricamente "Life Sciences Trends" calcula tener para 1988 a 37 000 suscriptores, distribuidos en las siguientes áreas: bioquímica, genética, biotecnología, inmunología, parasitología, farmacología, neurociencias, ecología y evolución, cada una con su revista; estas revistas publican esencialmente artículos originales de revisión. A partir de 1988, el Journal of Bio-

logical Chemical publicará cortos artículos originales de revisión (minireviews) que suponen serán de enorme utilidad para las labores de enseñanza. El Journal of Biological Chemistry ha sido, desde principios del siglo, la principal publicación norteamericana dedicada a reportar artículos originales de investigación en bioquímica. Los ejemplos seleccionados son muestra del provecho y aprobación que para el mundo científico internacional tienen los artículos originales de revisión.

Sobre las bondades intrínsecas de los artículos originales de revisión se pueden abonar que la comunidad los considera tan importantes que con frecuencia se hacen por invitación expresa del editor al autor. El autor tamiza la información, le da un contexto congruente a una gran cantidad de información, selecciona lo mejor, muestra las contradicciones, tiene enorme cuidado en el uso del lenguaje para precisar los hechos en contraste con las interpretaciones; idealmente el buen autor de un buen artículo original de revisión realiza una encomiable labor y es ampliamente leído.

Si bien a nivel de la comunidad científica internacional se acepta la necesidad y conveniencia de la aparición y lectura de buenos artículos originales que revisen temas concretos en el cada vez más amplio campo de la ciencia, resulta conveniente ponderar su importancia e impacto en países como los Latinoamericanos. Aun cuando se carece de información cuantitativa precisa, no parece aventurado afirmar que la comunidad científica latinoamericana está integrada por dos grupos muy diferentes entre sí. Un grupo, el que parece más pequeño, se localiza en los centros importantes de enseñanza superior en las grandes ciudades de cada uno de los países de la región; los integrantes del grupo ostentan grados académicos superiores a la licenciatura, tienen infraestructura para realizar investigación científica original,

cuentan con bibliotecas aceptables, asisten a reuniones científicas internacionales, de ordinario están actualizadas en su área de trabajo y participan en la docencia de posgrado. El otro grupo, que parece ser el más numeroso, se localiza en centros de enseñanza superior en ciudades pequeñas; los integrantes del grupo rara vez ostentan grados académicos superiores a la licenciatura, no tienen infraestructura para realizar investigación científica original, no disponen de bibliotecas actualizadas, con frecuencia no reciben regularmente ninguna publicación periódica, no asisten a reuniones científicas internacionales, no tienen ninguna facilidad para mantenerse realmente actualizados en su área de trabajo y no participan en la docencia de posgrado. Con enorme frecuencia se trata de maestros monolingües que imparten un curso, por ejemplo de bioquímica, a nivel de licenciatura.

Es precisamente para los integrantes del segundo grupo para quienes la lectura de artículos originales de revisión científica viene a ser una imperiosa necesidad muy frecuentemente insatisfecha. Y así el maestro cada vez pierde más actualidad y su curso se hace rutinario y monótono. Sin lugar a dudas la lectura sistemática de buenos artículos originales de revisión es decisiva para que los profesores tengan más seguridad en su labor docente, cuenten con más herramientas para estimular el aprendizaje de sus estudiantes, les ofrecen la posibilidad de un curso nuevo y dinámico, les da elasticidad para aceptar y entender mejor la renovación de la información y les da una verdadera cultura en la disciplina que enseñan.

El BEB aspira a satisfacer la necesidad de actualización de profesores de bioquímica comprendidos en el segundo de los grupos esbozados. En la República Mexicana el BEB se reparte aproximadamente entre 1100 profesores de bioquímica, 900 de ellos que enseñan la

materia y que pertenecen a dicho segundo grupo, además de más o menos 300 ejemplares distribuidos en el extranjero. Los que intervenimos en la edición BEB hacemos votos por que nuestro boletín satisfaga, al menos parcialmente, el genuino deseo de superación y actualiza-

ción que se mantiene vigente en los inconformes, pero auténticos profesores.

Enrique Piña Garza y  
Yolanda Saldaña Balmori  
Departamento de Bioquímica  
Facultad de Medicina, UNAM.

## LAS SALES DE FOSFATO Y CALCIO ASOCIADAS CON ARTROPATIAS

Federico Fernández Gavarrón (a, b, c.), Antonio J. Reginato (d) y Joseph L. Rabinowitz (b).

- a) Veterans Administration Hospital. University and Woodland Ave. Philadelphia PA 19104. USA.
- b) University of Pennsylvania. School of Dental Medicine Biochemistry Department.
- c) Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina. UNAM. Apartado Postal 70-159. C.P. 04510, México, D. F. México.
- d) Cooper Hospital/University Medical Center. One Cooper Plaza. Camden N.J. 08103. USA.

En algunas artropatias aparecen cristales en el líquido sinovial que pueden tener valor diagnóstico y que, a su vez constituyen la causa del proceso inflamatorio articular. La microscopia de luz polarizada, aplicada al estudio del líquido articular, ha permitido identificar fácilmente los cristales de urato monosódico, los de pirofosfato de calcio y recientemente los de oxalato de calcio.

En individuos con osteoartritis, en individuos con calcificaciones periarticulares y más raramente, en enfermos de artritis aguda de causa no precisada, aparecen cristales de fosfatos básicos de calcio que incluyen hidroxapatita, fosfato tricálcico y fosfato octacálcico. Estos cristales, dado su pequeño tamaño, no pueden ser identificados al microscopio de luz polarizada. Miden de 45 a 250 nm y forman conglomerados pequeños y polimorfos cuya birrefringencia es nula debido al desorden de los cristales dentro de estos conjuntos. En casos aislados se han identificado sales de calcio de mayor acidez, como el fosfato dicálcico dihidratado (brushita) o el fosfato de calcio anhidro (monenita) (Tabla I).

La identificación de estos cristales requiere de técnicas complejas. La microscopia electrónica de transmisión o de barrido proporciona información acerca de la forma y tamaño de los cristales, así como, de su relación con las estructuras celulares. Con la microsonda electrónica se puede determinar su composición elemental y la relación Ca/P, la cual es característica para cada una de éstas sales.

Las técnicas de mayor precisión incluyen la difracción de rayos X y la espectroscopia de rayos infrarrojos. La microscopia electrónica de transmisión de alta resolución, ha permitido conocer la estructura y los arreglos espaciales de estos cristales.

El reconocimiento de los cristales de fosfato de calcio en el líquido articular, por el clínico, se ha facilitado por el uso de un colorante, el rojo de alizarina S (RAS), que tiñe de rojo intenso los cristales que contienen calcio.

El RAS ha sido reconocido como un quelante del calcio, hierro, plomo, manganeso y

T A B L A 1

Fórmulas y relación molar de calcio a fósforo de los cristales que contienen calcio y se encuentran en el líquido o la membrana sinovial o en el cartílago de los humanos.

CRISTAL	FORMULA	Ca/P
Fosfatos básicos de Calcio (FbCa)*		
Hidroxiapatita (HA)	$Ca_5(PO_4)_3(OH)2H_2O^{**}$	1.67
Fosfato tricálcico (FTC)	$Ca_3(PO_4)_2$	1.50
Fosfato octacálcico (FOC)	$Ca_8H_2(PO_4)_65H_2O$	1.33
Fosfatos ácidos de calcio (FAC)***		
Fosfato dicálcico dihidratado (Brushita)	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	1.00
Fosfato dicálcico anhidro (Monenita)	$CaHPO_4$	1.00
O t r o s		
Pirofosfato de calcio dihidratado	$Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	1.00
Oxalato de calcio monohidratado	$CaC_2O_4 \cdot H_2O$	-----

\*Las mezclas de HA y FOC son muy comunes. Se encuentran también en calcinosis y en calcificaciones experimentales (calcifilaxis).

\*\*El carbonato sustituye con frecuencia a los grupos oxhidrilo o fosfato.

\*\*\*La brushita se ha encontrado solamente en un paciente. Monenita se ha encontrado solamente en un mono.

bario. Es un derivado de la antraquinona (fig. 1) y contiene dos oxígenos, dos oxhidrilos y un grupo derivado del ácido sulfónico en la forma de sal de sodio. Los cationes se unen al RAS por ligaduras covalentes fuertes con el oxígeno y los grupos oxhidrilo. Se cree que este es el mecanismo de formación del precipitado anaranjado rojizo característico que se ve cuando se une con el calcio. Los otros cationes producen un color violeta completamente distinto. Probablemente se forman otras ligaduras con el grupo derivado del ácido sulfónico y esto puede justificar además la tinción observada con algunos aniones como el fosfato.

ha creado un modelo que considera la superficie del absorbente como un mosaico en el cual las caras de la celda unitaria tienen una superficie de 0.65 nm<sup>2</sup>. El adsorbato de este modelo tiene unas dimensiones moleculares que corresponden a una relación 1:1 entre el adsorbato y el sitio de adsorción.

Los cristales pueden detectarse en forma más precisa por su capacidad de unirse con el difosfonato radiactivo. Ambas técnicas son inespecíficas pero se utilizan como pruebas de selección para la detección de hidroxiapatita en el líquido articular.

A partir de las isotermas de adsorción se

Cuando se tiñen con el colorante RAS los

cristales de hidroxapatita, en la enfermedad articular, aparecen como grumos de color rojo, los de pirofosfato de calcio aparecen como formas romboidales o de bacilos débilmente teñidos. Los de oxalato de calcio se tiñen de manera variable y aparecen en forma hipiramidal o de sobre.

El uso de estas técnicas histoquímicas y cristalográficas ha permitido el reconocimiento de múltiples factores que predisponen a depósitos intra o periarticulares de sales de fosfato y calcio. Así se han reconocido factores de orden familiar y genético (pirofosfato de calcio, apatita y oxalato de calcio), trastornos metabólicos y endócrinos, hiper e hipoparatiroidismo, hipomagnesemia, hipofosfatemia, hemocromatosis (pirofosfato de calcio), daño articular crónico post-traumático ó post-quirúrgico (pirofosfato de calcio y apatita), insuficiencia renal tratada con diálisis (apatita, oxalato de calcio), enfermedades del tejido conectivo (apatita). Así, en el estudio del líquido articular de enfermos con osteoartritis, se han podido identificar cristales de pirofosfato de calcio dihidratado y de hidroxapatita hasta en un 30% de los pacientes y es posible que estos cristales amplifiquen o aceleren el curso de este reumatismo degenerativo.

Las principales líneas de investigación en este campo se han orientado a identificar los mecanismos que inducen el proceso inflamatorio articular por cristales y actualmente, este tipo de inflamación es probablemente el mejor entendido. También se han estudiado aquellos factores que determinan *in vitro* así como los fenómenos bioquímicos que llevan *in vivo* a la sobresaturación de los fosfatos, pirofosfatos y de otros factores que inciden en la cristalización de las sales en los diferentes tejidos articulares. También se han obtenido en animales de experimentación modelos de estas artropatías por depósito de cristales de fosfatos de calcio y existe un interés por las artropatías debidas al acúmulo de cristales de fosfato o pirofosfato de calcio, similares a las humanas, que se presentan en los animales silvestres o domésticos. Asimismo, se ha investigado la formación *in vitro* de cristales, con o sin medio de soporte (gelatina o agar) y en ausencia o en presencia de induc-

tores de la cristalización.

Los cristales de hidroxapatita juegan un papel importante en la formación del hueso y del diente, pero en condiciones patológicas aparecen en los cálculos renales, las válvulas cardíacas y en los tejidos necrosados. También llegan a formarse en las válvulas cardíacas del cerdo o en las válvulas cardíacas artificiales al ser colocadas en el humano.

Para aclarar estos procesos se ha estudiado el papel de los diferentes tipos de colágeno en la nucleación de la apatita ya que el fenómeno de nucleación es importante tanto en las enfermedades articulares como en el caso de los implantes valvulares que contienen colágeno. Estos estudios se han hecho tanto *in vitro* como *in vivo*. En el primer caso se han utilizado las celdas de doble difusión, colocando pedazos de colágeno entre las dos soluciones que difunden y se ha encontrado que el colágeno nativo no es un agente nucleante capaz de inducir la precipitación de los fosfatos de calcio. El estudio *in vivo* se ha hecho colocando esponjas de colágeno, con tratamiento previo variable, desde muy ligero hasta relativamente prolongado, con vapores de formol o soluciones de concentraciones diversas de glutaraldehído, en el tejido subcutáneo de ratas jóvenes, durante 21 días. En estos estudios los implantes de colágeno nativo y los tratados 15 minutos con vapor de formol no calcificaron pero todas las preparaciones que sufrieron tratamientos más enérgicos depositaron fosfato de calcio. De aquí se puede concluir que, si bien, los implantes de colágeno nativo no calcifican, hay mucho riesgo de calcificaciones patológicas con este tipo de implantes ya que su desnaturalización puede tener lugar en forma accidental y aunque no sea apreciable por ningún método sencillo es posible que sea suficientemente intensa como para inducir la precipitación de los fosfatos de calcio.

## EL ORIGEN DEL PIROFOSFATO

El pirofosfato está constituido por dos moléculas de ácido ortofosfórico unidas entre sí por pérdida de una molécula de agua. La ligadura de fosfoanhídrido que se forma es relativamente estable en las condiciones

fisiológicas de pH, temperatura y fuerza iónica y es lábil frente a los ácidos fuertes y sobre todo en caliente. Las ligaduras de pirofosfato están presentes en muchos compuestos de interés bioquímico, principalmente los trifosfatos de nucleósido.

El pirofosfato se forma en la fotofosforilación en algunos microorganismos como *Rhodospirillum rubrum* y se forma también en la fosforilación oxidativa cuando las mitocondrias están desprovistas de nucleótidos aceptores. La glucosa 6 fosfatasa microsomal cataliza la fosforilación de la glucosa usando pirofosfato inorgánico como donador de fosfatos y esta misma enzima cataliza la hidrólisis de la glucosa 6 fosfato con formación de glucosa y ortofosfato y también la reacción en equilibrio pirofosfato inorgánico, dos ortofosfatos. El pirofosfato se encuentra en el hígado en una concentración de 2-6 nmoles/g. También en otros tejidos se encuentran cantidades de pirofosfato susceptibles de ser medidas. Estas concentraciones de pirofosfato junto con la concentración de calcio en los mismos tejidos hacen suponer un producto de solubilidad mucho mayor que el observado *in vitro* y se ha pretendido explicar este resultado suponiendo que el pirofosfato puede no estar totalmente libre sino parcialmente combinado con alguna sustancia (proteína, fosfolípido, etc.). Otra posible explicación es que las constantes de disociación del ácido pirofosfórico indican que, en las condiciones fisiológicas, el pirofosfato se encuentra principalmente como ión  $HP_2O_7^{3-}$  el cual puede formar complejos con alta constante de asociación, con el magnesio. Cualquiera de estas hipótesis, o las dos podrían explicar la falta de precipitación del pirofosfato de calcio dihidratado que exigen los estudios *in vitro*.

Una de las reacciones que, probablemente, tenga más importancia en la síntesis del pirofosfato es la formación de AMPcíclico. La adenilato ciclasa es una enzima de membrana que separa pirofosfato del ATP y el tercer fosfato lo une a la ribosa formando AMPcíclico. El pirofosfato formado saldría al exterior

por la muerte de la célula y rompimiento de su membrana. Sin embargo, datos más recientes parecen confirmar que el pirofosfato es formado por reacciones que tienen lugar en la parte exterior de la membrana, principalmente la síntesis de glucosaminoglucanos del cartílago articular, lo que justificaría la especificidad del tejido donde se deposita el pirofosfato de calcio y el hecho de que, en cultivo de tejidos, los condrocitos originarios de personas sanas producen menos pirofosfato que los que provienen de personas que padecen de condrocalcinosis o artritis asociadas a cristales de pirofosfato de calcio. También se supone que, por ser el cartílago un tejido único en cuanto a su relación matriz/células se refiere, el pirofosfato formado es protegido de la hidrólisis por pirofosfatasas porque como tiene peso molecular bajo, difunde mucho más de prisa que ellas a través de la matriz.

Otra enzima que podría participar en la síntesis del pirofosfato sería la nucleósido trifosfato pirofosfohidrolasa. La NTPasa, recientemente aislada, cataliza la reacción  $NTP = NMP + PPI$ . Su presencia en el medio extracelular del cartílago es todavía hipotética.

Cuando el NTP es el ATP, el AMP formado es degradado por las 5' nucleotidasas. En los homogenados de cartílago, esta enzima está más elevada en los que provienen de cartílagos articulares con condrocalcinosis que en aquellos que provienen de cartílagos normales o artrósicos.

La desaparición de los pirofosfatos extracelulares parece resultar esencialmente de la hidrólisis enzimática catalizada por las pirofosfatasas inorgánicas. Esta reacción no parece estar en equilibrio y por lo tanto la actividad de éstas enzimas debe ser un factor limitante en la eliminación de los pirofosfatos. La elevación del calcio sérico no induce condrocalcinosis, depósito de pirofosfato de calcio, más que en los casos de hipercalcemias muy elevadas y prolongadas (hiperparatiroidismo).

## INHIBICION DE LA CRISTALIZACION DE LOS FOSFATOS DE CALCIO

Además de los procesos anteriormente revisados, los depósitos de fosfatos de calcio constituyen el factor más importante en la producción de cálculos renales, gránulos mitocondriales y cálculos dentarios. Estos procesos son el resultado de la transformación del fosfato tricálcico amorfo en hidroxiapatita cristalina. Como esta transformación tiene lugar tanto *in vivo* como *in vitro*, ha sido estudiada intensamente buscando la manera de impedirla.

Uno de los compuestos más efectivos es el pirofosfato, que parece tener un papel muy importante en la formación del hueso. Sin embargo, actualmente se considera que el pirofosfato tiene también un papel muy importante en la producción de enfermedades como la condrocalcinosis y además el pirofosfato de calcio cristaliza mejor en presencia de ortofosfato, lo cual hace de éste compuesto un arma de dos filos si se pretendiera usarlo como inhibidor de la formación de hidroxiapatita. Otras moléculas pequeñas como el citrato y aun los iones  $Mg^{2+}$  tienen también poder inhibidor y entre estas tres sustancias se encuentra el 77% del poder inhibidor de la orina.

En el caso de las mitocondrias los principales inhibidores son el ATP y el  $Mg^{2+}$ . El hecho de que la fructosa 1,6 bisfosfato y el glicerol 2,3 bisfosfato así como el ácido fosfonofórmico y el fosfocítrico son también fuertes inhibidores de la transformación del fosfato amorfo de calcio en hidroxiapatita, ha llevado a la hipótesis de que existe una relación de estructura-función entre los inhibidores de esta conversión. Sería necesaria la estructura de dos fosfatos unidos a un oxígeno, a un nitrógeno o a un carbono o bien, dos fosfatos unidos a una molécula pequeña como la fructosa o el glicerol o bien, un fosfato y un carboxilo como el caso del ácido fosfocítrico o el fosfonofórmico y otros ácidos fosfónicos, como por ejemplo otro potente inhibidor el ácido 2-fosfonobutano 1,2,4 tricarboxílico que tiene el fosfato unido directamente al carbono y tres grupos carboxilo, lo que concuerda

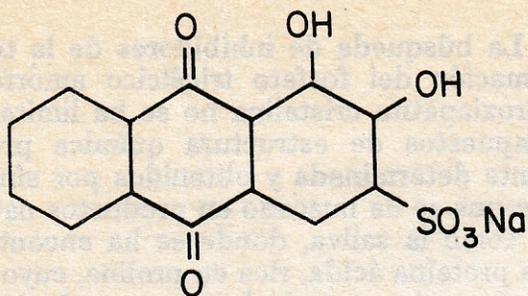
con la estructura propuesta.

La búsqueda de inhibidores de la transformación del fosfato tricálcico amorfo en hidroxiapatita cristalina no se ha limitado a compuestos de estructura química previamente determinada y obtenidos por síntesis sino que se ha buscado en productos naturales como la saliva, donde se ha encontrado una proteína ácida, rica en prolina, cuyo segmento amino terminal es capaz de inhibir fuertemente esta conversión.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

Existen artropatías que están asociadas a la presencia de cristales de composición variable pero que, en la mayoría de los casos son diferentes tipos de fosfato de calcio o bien, urato monosódico. Para identificar dichos cristales se usan los métodos de microscopia de luz polarizada que permite reconocer los cristales individuales bien formados como los de pirofosfato de calcio dihidratado y otros cristales como los de urato monosódico y los de oxalato de calcio. La identificación de cristales que se presentan en grumos no es posible a la luz polarizada porque el conjunto, por estar desordenado, no presenta birrefringencia. En estos casos es indispensable el uso de un colorante, el rojo de alizarina S, que tiñe de rojo los cristales que contienen calcio, un ejemplo típico de estos cristales es la hidroxiapatita. Como técnicas más refinadas se usan la microscopia electrónica y la difracción de raxos X.

La formación de cristales se ha estudiado *in vitro* con el fin de determinar las condiciones en que aparecen espontáneamente. Aunque los resultados presentan grandes desviaciones de las circunstancias encontradas *in vivo*, estos estudios han dado pie para desarrollar teorías acerca de los probables factores causantes de esta discrepancia. Los métodos *in vitro* consideran principalmente dos factores: los propiamente relacionados con la cristalización, como son la concentración de las sustancias reaccionantes, el pH y la fuerza iónica y los relacionados con la aceleración o retraso en la aparición de los cristales. Entre estos factores se considera de gran importancia la nucleación. Una sustancia



## ROJO DE ALIZARINA S

Figura 1.- Este ácido se une con el calcio a través de los grupos oxhidrilos y los oxígenos quinónicos dando un complejo de color rojo. Cuando se une con otros cationes o con fosfatos la coloración es violeta y se cree que están involucrados en el grupo ácido sulfónico.

nucleante de importancia máxima es el colágeno ya que se encuentra presente en el organismo en forma natural y existen pequeños implantes artificiales hechos de colágeno que se insertan en el organismo humano, como son las válvulas cardíacas. La acción nucleante del colágeno es nula en el caso de colágeno nativo, pero su poder se incrementa a medida que aumenta su desnaturalización. Por esta razón se considera como potencialmente peligroso el uso de este tipo de implantes que pueden hacer cristalizar sales de calcio con solo haber sufrido pequeños procesos de desnaturalización. En este caso concuerdan los resultados *in vivo* con los obtenidos *in vitro*.

Como una de las sales que tienen gran importancia en las artropatías es el pirofosfato de calcio dihidratado, se hace una breve descripción de los diferentes tipos de pirofosfatos que existen, cuales aparecen en condiciones patológicas y algunos de los complejos que tienen una constante de asociación muy grande y que por ello se piensa que pueden tener importancia *in vivo*.

En cuanto al origen del pirofosfato en los tejidos, se atribuye principalmente a la acción

de las enzimas de la parte externa de la membrana que sintetizan los glucosamina glucanos en el cartílago articular o bien, a la enzima nucleósido trifosfato pirofosfohidrolasa, aunque la presencia de esta enzima en el cartílago articular no ha sido suficientemente confirmada todavía y menos aún que se encuentre en concentraciones superiores en el cartílago que en otros tejidos.

Finalmente se hace mención de las sustancias que inhiben la formación de cristales y hasta ahora las mejor conocidas son las que impiden el paso del fosfato tricálcico amorfo a hidroxiapatita cristalina. Todas ellas están constituidas por moléculas pequeñas con uno o dos grupos fosfato unidos a carbono, oxígeno o nitrógeno o como en los ácidos fosfónicos, un fosfato unido directamente a un carbono de una molécula que contiene un carboxilo o más. Se ha encontrado un inhibidor natural de la cristalización que es una proteína ácida de la saliva, que contiene varios residuos de prolina y cuya actividad se encuentra en el fragmento amino terminal.

Con esto pretendemos haber dado una visión panorámica del campo de los cristales que se presentan en las artropatías y de las líneas de investigación que se están siguiendo en este terreno.

## BIBLIOGRAFIA

- McCarty D. J. (1986) Arthritis associated with crystals containing calcium. *Medical Clinics of North America* 70, 437-454.
- Pritzker K. P. H. (1986) Calcium pyrophosphate crystal arthropathy: A biomineralization disorder. *Human Pathol.* 17, 543-545.
- Myers H. M. (1986) Orientation of adsorbed alizarin red S on hydroxyapatite. *Calcif. Tissues Int.* 34, 857-861.
- Paul H., Reginato A. y Shumacher H. R. (1983) Alizarin red S staining as a screening test to detect calcium compounds in synovial fluid. *Arthritis and Rheumatism* 26, 191-200.

- Pritzker K. P. H., Cheng P., Adam M. E. y Nyburg S. C. (1978) Calcium pyrophosphate dihydrate crystal formation in model hydrogels. *J. Rheumatol.* 5, 469-473.
- Pokric B. y Pucar, Z. (1979) Precipitation of calcium phosphates under conditions of double diffusion in collagen and gels of gelatin and agar. *Calcif. Tissues Int.* 27, 171-176.
- Hearn P. R. y Russel R. G. G. (1980) Formation of calcium pyrophosphate crystals in vitro: Implications for calcium pyrophosphate crystals deposition disease (pseudogut). *Ann. Rheum. Dis.* 39, 222-227.
- Mandel N. S., Mandel G. S., Carroll D. J. y Halverson P. B. (1984) Calcium pyrophosphate crystal formation. *Arthritis and Rheum.* 27, 789-796.
- Levy R. J., Schoen F. J., Sherman F. S., Nichols J., Hawley H. A. y Lund S. A. (1986), Calcification of subcutaneously implanted type I collagen sponges. *American Journal Pathology* 122, 71-82.
- Brown, W. E. y Gregory, T. M. (1976) Calcium pyrophosphate crystal chemistry. *Arthritis Rheum.* 19, 446-462; *Ann Rheum. Dis.* 42, 27-36 (supplement).
- Mayoux-Benhamou M. A., Clerc D., Bisson M. y Massias P. (1986) Pathogenie de la chondrocalcinose articulaire. *Rev. Rheumatisme.* 53, 277-282.
- Russell R. G. G. (1976) Metabolism of inorganic pyrophosphate (PPi). *Arthritis and Rheumatism.* 19, 465-478.
- Hearn P. R., Guillard C. D., Fing D. F. y Russell R. G. G. (1983). Effect of orthophosphate and other factors on the crystal growth of calcium pyrophosphate in vitro. *Ann. Rheum. Dis.* 42, 101 (supplement).
- Williams G. y Sallis J. D. (1979). Structure activity relationships of inhibitors of hydroxyapatite formation. *Biochemical J.* 184, 181-184.
- Gaffar A. y Moreno E. C. (1985) Evaluation of 2-phosphono-butane 1, 2, 4 tricarboxylate as a crystal growth inhibitor in vivo and in vitro. *J. Dental Res.* 64, 6-11.
- Aoba T., Moreno E. C. y Hay D. I. (1984) Inhibition of apatite crystal growth by the amino terminal segment of human salivary acidic prolinrich proteins. *Calcif. Tissues Int.* 36, 651-658.

## ENDURECIMIENTO DEL FRIJOL: CAUSAS Y NATURALEZA DEL FENOMENO

IRMA BERNAL-LUGO, DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA

DIVISION DE BIOQUIMICA Y FARMACIA.

FACULTAD DE QUIMICA, UNAM. MEXICO 04510, D.F.

### INTRODUCCION

El frijol constituye una de las legumbres de mayor consumo en América Latina. En poblaciones rurales el 30% de la proteína de la dieta diaria se obtiene de este grano (1). Para su consumo, el frijol se remoja en agua y

posteriormente la legumbre se cuece en agua ya sea a presión atmosférica o a presión elevada. Si la cocción se hace por un tiempo óptimo, el grano mejora su sabor y digestibilidad, además la testa y el cotiledón pierden su

rigidez. El cambio en la textura del grano durante la cocción se debe a cambios estructurales y de composición de la pared celular (2,3), mientras que el aumento en el valor nutritivo ocurre por cambios en la composición del citoplasma de las células del cotiledón (4).

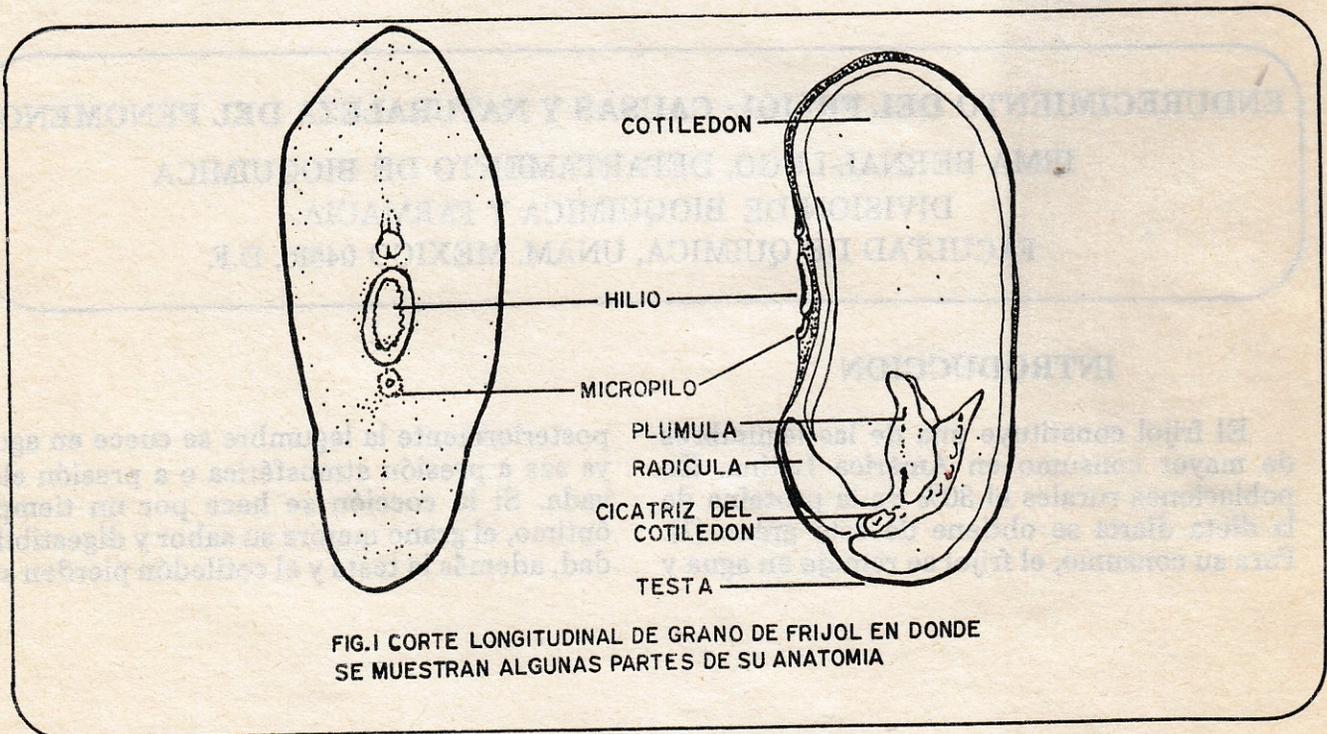
Bajo ciertas condiciones de almacenamiento el frijol se ve afectado por cambios indeseables que alteran negativamente su calidad (5). Estos granos requieren un mayor tiempo de cocción para lograr la suavidad deseada por el consumidor y se dice que el frijol se ha endurecido. Esta pérdida de la calidad culinaria va acompañada de una disminución del valor nutritivo del grano (4).

La pérdida de la calidad del frijol durante el almacenamiento disminuye la cantidad del grano disponible para la alimentación y además representa pérdidas económicas para el productor ya que el valor comercial del grano disminuye; para el industrial el endurecimiento del frijol dificulta la estandarización tanto del proceso como del producto terminado, lo que demerita considerablemente la calidad del producto final. Por su parte el ama de casa rechaza el frijol endurecido porque requiere un mayor gasto de energía para su cocción.

En México las pérdidas de frijol por endurecimiento no han sido cuantificadas adecuadamente. Sin embargo, se habla de que un 10% de la producción almacenada se pierde debido a este fenómeno. El propósito de esta revisión es examinar la evidencia acumulada alrededor del fenómeno de endurecimiento del frijol e integrarla en un modelo bioquímico que explique el deterioro del frijol en el almacén. Para este fin, se revisará la estructura y composición del grano del frijol, la influencia y participación de ambos factores en el proceso de cocción y las posibles causas bioquímicas que conducen al establecimiento del endurecimiento.

### ESTRUCTURA Y COMPOSICION DEL GRANO DE FRIJOL

En el grano de frijol, al igual que en otras leguminosas como la alfalfa, la soya, el chícharo, etc., se pueden distinguir dos regiones (fig. 1): La cubierta del grano o testa y los cotiledones u hojas embrionarias (6-8). Entre los cotiledones se encuentra localizado el embrión que dará lugar a la futura planta. En la superficie del grano se localiza el hilio, que es la estructura que une el óvulo a la legumbre y el micropilo, un poro en la cubierta celular que une la testa con los tegumentos de los cotiledones.



A continuación sólo se describen las estructuras y componentes que participan en la cocción y en el endurecimiento del frijol.

El citoplasma de las células del cotiledón contienen granos elípticos de almidón, embebidos en una matriz que consiste de cuerpos proteicos o granos de aleurona. Los cuerpos proteicos poseen inclusiones cristalinas o globoides las cuales son ricas en ácido fítico. Las proteínas de reserva también se encuentran localizadas en el interior de estos organelos.

El ácido fítico o hexafosfato de mioinositol, es la forma en que las semillas de las leguminosas almacenan fosfato inorgánico. Los contenidos de ácido fítico en el grano de frijol varían de 0.2 a 2.5% con base en peso seco. La estructura polar de esta molécula le proporciona un fuerte potencial quelante por lo que interacciona con cationes mono y divalentes que incluyen a ciertos minerales esenciales de la dieta como el  $Zn^{2+}$ , al que hace biológicamente inaccesible para su absorción (9). En el grano de frijol el 75% del ácido fítico se encuentra soluble (9) en forma quizá de un complejo proteína-ion divalente-fitina. El resto se encuentra en forma insoluble depositado en globoides cristalinos del cuerpo proteico.

La pared celular es la estructura que rodea al protoplasto y consiste de microfibrillas de celulosa, hemicelulosa y lignina. Las paredes celulares de dos células contiguas están unidas por la lamela media formada principalmente por sustancias pécticas. Este cemento intercelular es una mezcla de polisacáridos constituidos por pectinas, polímeros de ácido glucurónico esterificado parcialmente con grupos metilo, los grupos carboxilo libres interaccionan con iones inorgánicos, para formar los pectatos. La pared celular también contiene de 5 a 10% de compuestos polifenólicos en la forma de complejos polisacáridos-proteína-polifenol, además de ciertos polisacáridos neutros. La textura que el grano seco posee se debe principalmente a la estructura y composición de la testa y de la lamela media.

La testa de la semilla de frijol, al igual que la de otras leguminosas es rica en taninos y

ligninas, recientemente estos componentes también han sido implicados en el endurecimiento del frijol.

Los taninos son compuestos fenólicos solubles en agua, de peso molecular entre 500 y 3 000 daltones y que poseen la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas (8). Los dos componentes monoméricos más abundantes son los compuestos isoméricos, catequina y epicatequina, las cuales se condensan para formar polímeros hexaméricos y heptaméricos.

La lignina es un polímero tipo malla compuesto de alcoholes aromáticos substituidos. La estructura tridimensional consiste de cadenas lineales entrecruzadas por una variedad de enlaces covalentes intercadena. Es un compuesto no cargado, insoluble y ampliamente distribuido en tejidos vegetales donde se encuentra unido en forma covalente a los componentes de la hemicelulosa de la pared celular y de la lamela media (8).

La función de la lignina es disminuir la permeabilidad del agua a través de la pared celular, impartir rigidez y unir células que crean una estructura resistente al impacto, compresión y deformación.

#### PROBABLES SUCESOS MOLECULARES ASOCIADOS AL PROCESO DE COCCION

Durante el proceso de cocción el grano de frijol, hidratado por el remojo previo, se suaviza. Este cambio en la textura del grano es consecuencia de la solubilización de la lamela media, lo cual permite la separación de las células adyacentes del cotiledón (10). La solubilidad del material intercelular que forma la lamela media depende de la cantidad del calcio y magnesio que interaccionen con las sustancias pécticas (7). Esto sugirió que durante el proceso de cocción se debía inducir una relocalización de los cationes divalentes presentes en la pared celular. Una posibilidad es que durante la cocción del grano la pared celular sufra cambios estructurales que permitan disminuir la fuerza de interacción pectato-ión divalente, con esto cambia la

solubilidad de los componentes de la lamela media. La variación en la solubilidad también se daría si los cationes son quelados por el ácido fítico y/o las proteínas de reserva, ya sea porque los cationes se movilizan al interior del protoplasto o porque los quelantes (como ácido fítico o proteínas) se movilizan hacia el exterior y al pasar por la pared celular interaccionan con los iones divalentes y los arrastran consigo y aumenta de esta manera la solubilidad de la pectina. A la fecha se desconoce cuál de estas posibilidades, o si ambas, participan en disminuir el contenido de iones divalentes de la pared celular durante la cocción del grano.

Se ha demostrado que cuando el frijol se remoja a 60°C por 12 h. el 33% del ácido fítico se hidroliza por acción de la fitasa y el resto difunde al agua de remojo. Esto sugiere que durante el proceso de cocción y por efecto del calor las proteínas de reserva se desnaturalizan y liberan al ácido fítico de su asociación, la membrana del cuerpo proteico se rompe lo que permite que el ácido fítico se movilice al medio de cocción (Bernal-Lugo I. datos no publicados) y arrastra muy posiblemente consigo a los iones divalentes lo que permite la solubilización de la lamela media.

Se ha determinado en frijoles cocidos que el contenido de pectinas  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  presentes en la pared celular es menor que en el frijol crudo (11), otros cambios estructurales observados durante la cocción del grano de frijol incluyen la gelatinización de los gránulos de almidón (12). De lo anterior se concluye que cualquier factor que modifique cualitativa o cuantitativamente los componentes de la pared celular y/o los quelantes citoplásmicos afectaran en forma importante el proceso de cocción.

#### EL ALMACENAMIENTO DEL GRANO DE FRIJOL Y SU RELACION CON EL ENDURECIMIENTO

Los factores que se han relacionado con el endurecimiento del frijol durante el almace-

namiento son: humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento (13). El frijol con un contenido de humedad entre 13 y 18% requiere de tiempos de almacenamiento mayores a 6 meses para endurecerse, siempre y cuando la temperatura de almacenamiento sea menor de 30°C (13), pero si se almacena a 4°C, no se endurece ni en 2 años (14); expuesto a 100% de humedad relativa y a 14°C sólo requiere de 14 días de almacenamiento para aumentar su tiempo de cocción (15). La velocidad del incremento en el grado de endurecimiento se debe principalmente a las condiciones de temperatura y humedad bajo las cuales se almacena el grano.

Las regiones donde se produce, almacena y consume frijol son por lo general de clima tropical donde la humedad relativa promedio es de 85% y la temperatura de 30°C; semitropical con 65% de humedad relativa en el ambiente y 24°C; y en las zonas templadas con una humedad relativa del 35% y temperaturas entre 15 y 20°C. Cuando se almacenó frijol en el laboratorio en condiciones similares a las anteriores se encontró que en alta humedad relativa y temperatura (clima tropical) el frijol inicia su proceso de deterioro a los 3 meses de estar almacenado, el tiempo de cocción del frijol almacenado por un año bajo estas condiciones fue de 3 veces más que en el control. En las otras dos condiciones, los períodos de almacenamiento hasta de un año no causan deterioro en el frijol (12).

#### EFEECTO DEL ALMACENAMIENTO EN LA COMPOSICION DEL GRANO DE FRIJOL

En estos estudios se han cuantificado principalmente los niveles de los compuestos que se modifican o participan en el proceso de la cocción. En granos remojados por 10 a 18 h a temperatura ambiente, se ha reportado que el contenido de ácido fítico y el grado de metilación de las pectinas es menor en frijol endurecido que en el frijol control. Los contenidos de  $Ca^{2+}$  y  $Mg^{2+}$  en la pared celular son mayores en frijol endurecido que en el control, mientras que los niveles de sustancias pécticas totales es similar en ambos casos, pero el frijol endurecido tiene un

mayor contenido de pectinas insolubles en oxalato de amonio. Los resultados antes mencionados fueron obtenidos en frijol almacenado por 6 meses en 70% a 75% de humedad relativa y 34° C (3). En este trabajo no se menciona el tiempo de cocción inicial y final del frijol. Sin embargo, cuando la determinación de estos compuestos se realiza en granos cuyo grado de dureza es menor de 2 (cociente de dividir el tiempo de cocción del frijol a cualquier tiempo de almacenamiento entre el tiempo de cocción inicial) y el frijol no se remoja antes de las determinaciones, el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en pared celular, el grado de metilación de las pectinas y la cantidad de las mismas es similar en ambos casos (I. Bernal-Lugo y A. Baeza, datos no publicados).

Los resultados antes mencionados y aparentemente contradictorios podrían deberse a que los granos utilizados en ambos casos, presentaban diversos grados de dureza o bien que durante el almacenamiento se inducen ciertos cambios estructurales y de composición en el grano de frijol que sólo se manifiestan durante el período de remojo. Resultados de nuestro laboratorio sugieren que la disminución en el grado de metilación de las pectinas se presenta en el frijol cuyo grado de dureza es mayor de 3, sin embargo el contenido de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$  en la pared celular del grano seco no se modifica.

Recientemente se han publicado datos experimentales que sugieren que la lignificación (interacción de polifenoles y proteínas) podría estar involucrada en el fenómeno de endurecimiento. El contenido libre de taninos de frijol disminuye con el tiempo de almacenamiento mientras que los asociados a proteínas aumenta. Este comportamiento es más pronunciado en frijol negro y rojo y se correlaciona en forma negativa con el tiempo de cocción (16, 17).

#### POSIBLES CAUSAS BIOQUIMICAS INVOLUCRADAS EN EL FENOMENO DEL ENDURECIMIENTO DEL FRIJOL

El fenómeno de endurecimiento del frijol

se induce cuando el grano es almacenado en humedades relativas altas ( $\text{HR} > 60\%$ ) y temperaturas medias ( $T > 20^\circ\text{C}$ ) en estas condiciones los contenidos de agua del grano varían del 8% al 20% según de la HR y T en el almacén. La actividad del agua en estos granos a 25°C es mayor de 0.8 (18). Esta actividad del agua permite la acción de diversas enzimas. Entre las enzimas que podrían activarse durante el almacenamiento del frijol están la fitasa que hidroliza al fitato a inosídeos y fósforo inorgánico, que pierde así su capacidad para quelar iones divalentes; la pectina ésterasa que remueve los grupos metilo de las pectinas y expone a los grupos carboxilo y con esto aumentan los sitios y/o la fuerza de interacción de las pectinas con los iones divalentes, las lipooxigenasas que modifican los lípidos y producen la degradación de membranas e incrementan de esta forma la interacción enzima-substrato. Las proteasas que podrían hidrolizar a las proteínas de reserva y producir péptidos de menor peso molecular quizás con propiedades más reactivas. Y las peroxidadas y enzimas asociadas que producirían el entrecruzamiento de los polifenoles a las proteínas de la pared celular que originan la lignificación y/o cambios estructurales en la pared celular.

Los datos anteriores se pueden resumir en el siguiente modelo: el proceso del endurecimiento del frijol se inicia por un aumento del contenido de agua del grano (5% contenido de humedad) y se pueden distinguir 3 etapas, las cuales pueden ser paralelas o interdependientes y el tiempo que tarda en establecerse cada una dependerá de las condiciones de almacenamiento y composición inicial del grano (ambos factores determinan la actividad del agua del grano).

Primera etapa. A contenidos de humedad mayores al 8% la estructura del cuerpo proteico se modifica (¿pérdida de integridad por ruptura membranal?) lo que permite la interacción entre la fitina y la fitasa, con lo cual disminuyen los niveles de la fitina. Cuando el frijol se encuentra en esta etapa de deterioro, el endurecimiento se revierte remojando los granos en una solución de EDTA, antes de ser sometidos al proceso de cocción (E.

Moreno, J. Ramírez e I. Bernal-Lugo, datos no publicados). El grano almacenado continúa su deterioro y en la segunda etapa el grano de metilación de la pectina disminuye por acción de la pectina metil esterasa (PME). Esta etapa requiere de períodos mayores de almacenamiento que el requerido para el establecimiento de la primera etapa (I. Bernal-Lugo, datos no publicados).

Los tiempos de cocción de este frijol deteriorado también disminuyen si se trata con EDTA o con ácido fítico antes de ser sometido al proceso de cocción. El hecho de que el establecimiento de esta etapa requiere de mayor tiempo que la anterior sugiere o que la pectina-metil-esterasa tarda más que la fitasa en activarse o que se requiere mayor tiempo de almacenamiento para que se realicen los cambios estructurales en la pared celular que permitan la interacción entre enzima y sustrato. Una vez iniciados los cambios estructurales ya sea por reacciones enzimáticas o medios físicos (radicales libres) se inicia la tercera etapa, constituida por la lignificación de la pared celular; esta tercera etapa se puede iniciar en forma concomitante con la etapa 2 o posterior a ella. La lignificación sólo sería revertible a través de tratamientos drásticos como sería el tratamiento alcalino. (G. Dávila, comunicación personal).

Dado que la primera y segunda etapa propuestas para el deterioro son fácilmente reversibles lo ideal sería evitar la última etapa a través de inhibir o disminuir la actividad de la polifenol oxidasa y/o disminuir el contenido de polifenoles de los granos de frijol y/o de proteínas presentes en la pared celular.

#### REFERENCIAS

- 1.- Tandon, O. B., Bressani, R., Scrimshaw, N. S. y Le Bean F. (1957). Nutritive value of beans. *Nutrients in Central american-beans* J. Agric. Food Chem. 5: 137-141.
- 2.- Varriano-Marston, E. y Jackson, G. M. (1981) Hard to cook phenomenon in beans: Structural changes during storage and imbibition. *J. Food Sci.* 46: 1379-1385.
- 3.- Jones PMB y Boutler D. (1983). The cause of reduced cooking rate in *Phaseolus vulgaris* following adverse storage conditions *J. Food Sci* 48: 623-628.
- 4.- Tobin G. y Carpenter K. J. (1978). The nutritional value of the dry bean (*Phaseolus vulgaris*): A literature review. *Nutr. Abstr. Rev.* 48: 920-935.
- 5.- Elias L. G., Bressani R. y Flores M. (1975). Problems and Potentials in storage and processing of food legumes in Latin America. En *potentials of field beans and other food legumes in Latin America*. D. Wall (Ed.) CIAT. p. 52-87.
- 6.- Seed Physiology. Development V. 1 Ed. Murray D. R. Acad. Press. (1984).
- 7.- Goodwin T. W. y Mercer E. I. (1983) Introduction to plant Biochemistry 2a. Ed. Pergamon Press.
- 8.- Haslam, E. (1981) Vegetable Tannins, en "Biochemistry of Plants" A comprehensive treatise (Ed.) Stumpf P. K. y Conn E. Vol. 7 Acad. Press.
- 9.- Reddy, N. R., Sathe, S. K. y Salunkhe, D. K. (1982). Phytates in legumes and cereals. *Adv. Food Res.* 28: 1-91
- 10.-Sefa-Dede, H. S. y Stanley, D. W. (1979). Textural implication of the microstructure of legumes. *Food Technol.* 33: 77-83.
- 11.-Moscoso W., Bourne M. C. y Hood L. F. (1984). Relationship between the hard-to-cook phenomenon in red kidney beans and water absorption, puncture force, pectin, phytic acid, and minerals. *J. Food Sci.* 49: 1577-1583.
- 12.-Hohlberg A. y Stanley, D. W. (1987). Hard to cook defect in black beans. Protein and starch considerations. *J. Agric. Food. Chem.* 35: 571-576.
- 13.-Burr, H. K., Kon, S. y Morris, H. J. (1968). Cooking rate of soaked beans as influenced by moisture content, temperature and

time of storage. Food Technol. 22: 88-91

14.-Esquivel, R. M. (1984). Tesis. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. UNAM.

15.-Jackson, G. M. y Variano-Marston, E. (1981). Hard to cook phenomenon in beans: Effect of accelerated storage on water absorption and cooking time. J. Food Sci. 46: 799-803.

16.-González de Mejía, E. (1982). Efecto de diferentes condiciones de almacenamiento sobre el desarrollo de la dureza del fri-

jol. Arch. Lat. de Nutrición 32: 258-274.

17.-Sievwrith, C. A. y Shipe, W. F. (1986). Effect of storage conditions and chemical treatments of firmness, in vitro protein digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris*) J. Food Sci. 51: 982-987.

18.-Labuza T. P. (1980) The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. Food Tech. 34: 36-59.

## EL ION HIDROGENO Y EL EQUILIBRIO ACIDO BASICO

Federico Gómez. Colaboradoras: Ma. Isabel Covas P., Cecilia I. Díaz V., Ella Ferguson M. Departamento de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá. Tres ediciones: 1974, 1981 y 1983. 64 páginas, tablas y figuras. Panamá.

Este manual de laboratorio diseñado como una instrucción programada está destinado a los estudiantes de Medicina de la Universidad de Panamá. Dado su diseño, en cada una de las once partes de la unidad, se incluye una información, una parte práctica y un ejercicio. No se incluyen las respuestas ya que en el desarrollo de los laboratorios y en la discusión de resultados los estudiantes responden a las interrogantes.

Los temas incluidos en este manual van desde una revisión de los conceptos de química general: ácidos, bases, tipos de ácidos, tipos de acidez, hasta temas de aplicación tanto del laboratorio clínico como de la clínica. A partir de la cuarta parte se tratan temas de aplicación, como lo son la acidez de titulación de la orina y la determinación de la urea por fotometría. Otro tema de aplicación de

conceptos es la utilización de las soluciones de sales que dan reacciones ácidas o básicas para el tratamiento de la acidosis y la alcalosis. Luego se estudian los sistemas amortiguadores y la capacidad amortiguadora de los líquidos biológicos, con el fin de señalar la importancia de estos sistemas en el mantenimiento de la homeostasis del medio interno. En los últimos capítulos se estudian los parámetros utilizados en la clínica y se relaciona el concepto de aniones amortiguadores con el metabolismo intermediario, a saber con los cuerpos cetónicos. En la última parte, se estudian las alteraciones primarias del equilibrio ácido básico mediante la resolución de problemas clínicos.

Cecilia I. Díaz V.  
Departamento de Bioquímica y Nutrición  
Facultad de Medicina, Universidad de Panamá.

## CONCEPTOS DE BIOQUIMICA ODONTOLOGICA

Ma. Isabel Covas P. y Cecilia I. Díaz V. en colaboración con Ella Ferguson M. y Federico Gómez R. Departamento de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Panamá. 2a. Edición, Impresión Estudi 6, Barcelona, 55 páginas, tablas, figuras. España, 1984.

Este libro destinado a los estudiantes de Odontología cubre los aspectos de aplicación sobre los temas de Bioquímica Odontológica. En la parte A que consta de nueve capítulos se incluyen los siguientes temas: agua e iones en el diente y en la saliva, los glúcidos en las estructuras dentales, los lípidos en las estructuras dentales, las proteínas dentarias, los amortiguadores, la bioquímica de la saliva, la mineralización dental y los aspectos metabólicos de los tejidos dentarios. En la parte B, se trata de metabolismo mineral, fluor, calcio y fósforo. En los apéndices se incluyen las abreviaturas utilizadas en el texto, fórmulas

inorgánicas, fórmulas orgánicas y un glosario.

La presentación, la claridad del texto y de las figuras así como los contenidos de este libro hacen del mismo un compañero ideal para que el estudiante de Odontología se interese en conocer los fundamentos bioquímicos de las lesiones odontológicas.

Cecilia I. Díaz V.  
Departamento de Bioquímica y Nutrición.  
Facultad de Medicina, Universidad de Panamá

# INDICES DE REVISTAS

## SCIENTIFIC AMERICAN

Established 1845

July 1987

Volume 257

Number 1

### ARTICLES

- 24 **CAN ADVANCED TECHNOLOGY SAVE THE U.S. STEEL INDUSTRY?**, by Julian Szekely  
It may, if manufacturers eventually concentrate on production of high-value-added specialty steels.
- 32 **THE MOLECULES OF VISUAL EXCITATION**, by Lubert Stryer  
The chemical choreography that converts light into a nerve signal has been worked out in detail.
- 42 **THE RINGS OF URANUS**, by Jeffrey N. Cuzzi and Larry W. Esposito  
Data from *Voyager 2* begin to explain the narrow, dark rings and the nearly transparent bands of dust.
- 52 **BEACHES AND BARRIER ISLANDS**, by Robert Dolan and Harry Lins  
Manmade structures cannot protect Atlantic and Gulf coast beaches from northeasters and hurricanes.
- 60 **LYME DISEASE**, by Gail S. Habicht, Gregory Beck and Jorge L. Benach  
It is an increasing summertime hazard. Medical sleuthing found its cause and thus a treatment.
- 66 **COLD NUCLEAR FUSION**, by Johann Rafelski and Steven E. Jones  
The particles called muons can catalyze the fusion of deuterium and tritium at room temperature.
- 72 **AERODYNAMICS OF WIND POLLINATION**, by Karl J. Niklas  
Pinecones and the flowers of some plants channel wind-borne pollen grains toward the egg chamber.
- 78 **ARCHES AND VAULTS IN THE ANCIENT NEAR EAST**, by Gus W. Van Beek  
It was the masons of Egypt and Mesopotamia, rather than the Romans, who invented these forms.

### DEPARTMENTS

- |    |                         |    |                       |
|----|-------------------------|----|-----------------------|
| 6  | LETTERS                 | 86 | THE AMATEUR SCIENTIST |
| 8  | 50 AND 100 YEARS AGO    | 90 | COMPUTER RECREATIONS  |
| 10 | THE AUTHORS             | 94 | BOOKS                 |
| 12 | SCIENCE AND THE CITIZEN | 98 | BIBLIOGRAPHY          |