

OCURRENCIA DE TÓXICOS NATURALES EN FRIJOL COLORADO (*Phaseolus vulgaris*) Y ARVEJA (*Pisum sativum*). EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO Y LOS TRATAMIENTOS CASEROS

Tania Bilbao Reboledo¹, Sandra Hampe Amador¹, Ruth Addae Smith¹, Felicidad Puerta García¹ y Luis Ledesma Rivero.¹

RESUMEN

*Las leguminosas, consideradas como una de los principales alimentos para el hombre pueden contener diferentes sustancias conocidas como antinutrientes las cuales tienen cierto efecto en la nutrición humana y animal si no son removidos o inactivados adecuadamente. En Cuba existe muy poca información sobre cuales son los antinutrientes y en qué concentraciones se encuentran en dos de las leguminosas de importación de mayor consumo por nuestra población: el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y la arveja (*Pisum sativum*) y tampoco se han estudiado los cambios que pueden sufrir durante su almacenamiento, así como la efectividad de los tratamientos caseros. Muestras de estos granos fueron analizadas durante un año de almacenamiento comercial a una temperatura promedio de 27 °C y 79 % de humedad relativa. Se evaluó la presencia de taninos, ácido cianhídrico, ácido fítico, inhibidores de proteasas y lectinas, en los granos crudos y después de dos tratamientos: remojo y cocción y cocción directamente, en olla de presión. Todos los antinutrientes disminuyeron con el tiempo de almacenamiento ($p < 0,05$). Los tratamientos aplicados eliminaron el ácido cianhídrico, los inhibidores de tripsina y las lectinas en los dos tipos de granos, comprobándose la efectividad de la combinación remojo-cocción sobre la aplicación únicamente del tratamiento térmico, sobre el resto de los antinutrientes.*

Palabras claves: Frijol colorado, *Phaseolus vulgaris*, Arveja, *Pisum sativum*, antinutrientes, tratamientos caseros, almacenamiento.

Aprobado para su publicación Mayo 17 de 2000.

¹ Profesores e Investigadores del Departamento de Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.

ABSTRACT

*Legumes have been considered amongst the more important food sources for mankind and they can include different substances known as antinutrients. Such elements usually exert some dangerous effects in both human and animal nutrition if not properly removed. In Cuba there is a few information about antinutrients (occurrence) in two of the most popular grains for the our people: common bean (*Phaseolus vulgaris*) and garden pea (*Pisum sativum*). Changes in these parameters during storage and after domestic cooking were observed. Samples of both grains were analyzed for a year of commercial storage at an average temperature of 27 °C and 79 % of relative humidity. Tannins, cyanide acid, phytic acid, protease inhibitors and lectins in row and steamily cooked (both soaked and not soaked) were determined. All antinutrient concentration decreased with storage time ($p < 0,05$). After the applied treatments cyanide acid, protease inhibitors and lectins completely vanished in both grains. The combination of soaking-cooking was more efficient in removing the rest of antinutrients than cooking as the only procedure.*

Key words: brown bean, *Phaseolus vulgaris*, pea, *Pisum sativum*, antinutrients, domestic cooking, storage.

INTRODUCCIÓN

Las leguminosas están consideradas como una de los principales alimentos para el hombre por constituir una adecuada fuente de proteínas, minerales, vitaminas y energía y son la base de la alimentación especialmente de países en vías de desarrollo (Aykroyd y Doughy, 1982).

Al igual que otros alimentos, pueden contener diferentes sustancias conocidas como antinutrientes que tienen cierto efecto en la nutrición humana y animal si no son removidos o inactivados eficientemente por diferentes procesamientos (Deshpande y Damodaran, 1990; Barampamay Simard, 1995). Los inhibidores de proteasas, fitatos, taninos y lectinas entre otros, pueden interferir en la absorción y metabolismo de ciertos nutrientes lo cual unido a la baja calidad de las proteínas y digestibilidad proteica de las leguminosas y el carácter tóxico de ciertas sustancias presentes en los

granos, como el cianuro, inhibidor de la citocromo oxidasa, indican la necesidad de que estos compuestos sean reducidos o eliminados adecuadamente con el fin de mejorar las cualidades nutricionales de los granos (Van der Poel, 1990; Bressani *et al.*, 1991).

En Cuba existe muy poca información sobre cuales son los antinutrientes y en qué concentraciones se encuentran en dos de las leguminosas de importación de mayor consumo por nuestra población: el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) y la arveja (*Pisum sativum*) (Bilbao *et al.*, 1996) y tampoco se han estudiado los cambios que pueden sufrir durante su almacenamiento, así como la efectividad de los tratamientos caseros.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la presencia de algunos antinutrientes y sustancias tóxicas en los granos mencionados, el comportamiento durante su almacenamiento comercial y el efecto de los métodos de cocción

sobre más comunes, llevados a cabo por nuestra población sobre la presencia de estas sustancias.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó con frijol común (*P. vulgaris*) y arveja (*P. Sativum*) procedentes de China y Canadá, respectivamente. Los granos se almacenaron durante un año a temperatura ambiente registrándose durante el período de ensayo, valores promedio de $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de $79 \pm 2\%$.

Muestreo: Se realizaron 6 muestreos a partir de dos estibas de 40 sacos cada una (una de frijol y otra de arveja), siguiendo un diseño en "Z" tomando 8 puntos por cara de la estiba utilizando una cala de 30 cm de longitud. Las muestras fueron reducidas por el método del cuarteo hasta obtener 1kg de muestra final.

Preparación de las leguminosas crudas. Los granos fueron triturados en un molino Pulvex hasta obtener un tamaño de partícula de aproximadamente 60 micras y conservados en bolsas de polietileno a 4°C hasta la realización de los análisis.

Remojo y cocción de los granos: Los granos fueron remojados en agua destilada a temperatura ambiente durante 12 horas y cocidos en olla de presión, 121°C . Las proporciones grano-agua fueron de 1:10 (m / v). El tiempo inicial donde se detuvo la cocción fue de 30 minutos para el frijol y 20 para la arveja teniendo en cuenta que para un grano fresco cocido en olla de presión

el tiempo aproximado que demora en lograr la textura deseada es de 30 minutos (Reyes y Paredes, 1992) además de tener en cuenta las observaciones realizadas por amas de casa en encuesta previa donde el 90 % de 200 personas recomendaron dicho tiempo para el frijol y 20 para la arveja. Para determinar el tiempo de cocción se extrajeron muestras de 60 granos de cada leguminosa, oprimiendo grano a grano entre los dedos índice y pulgar ejerciendo una presión moderada (Elías *et al.*, 1986). Si el porcentaje de granos cocidos era inferior al 90% se continuó la cocción cinco minutos más, partiendo de otra muestra. El tiempo de cocción en los sucesivos muestreos se comenzó a detener 5 minutos después a partir del tiempo determinado en el muestreo anterior, repitiéndose el procedimiento cada 5 minutos hasta obtener los granos la textura deseada para ser consumidos. Los homogenatos (grano y caldo) fueron obtenidos en licuadora (Osteryser) y secados en liofilizadora (Serail) a una temperatura de enfriamiento de -20°C (secado primario) y temperatura de la platina de 30°C , conservándose los homogenatos a 4°C en los casos requeridos hasta la realización de los análisis.

Análisis. Se efectuaron los siguientes análisis al grano crudo y cocido (con y sin remojo): Los taninos fueron determinados según la norma ISO - 9648,1988(E), extrayéndolos con dimetilformamida, expresando los resultados en de ácido tánico. Para el ácido fítico se empleó el método de la AOAC (1990). Los inhibidores de tripsina se determinaron según Kakade *et al.*,1974, dependiendo a la

modificación de González *et al.* (1986) utilizando hemoglobina como sustrato y expresando los resultados en UTI / g de materia seca. Para el ácido cianhídrico se siguió el procedimiento descrito para frijoles en la AOAC, 1990. La actividad hemoaglutinante fue determinada de acuerdo al método de Jaffé y Bucher en 1972.

El análisis estadístico de los resultados se realizó según la prueba de distribución normal alrededor de la media y la prueba de Dunnett de homogeneidad de varianzas, análisis de varianza de clasificación simple y la

Prueba de Intervalos Múltiples de Duncan (López, 1994). El procesamiento matemático se realizó utilizando los programas Excel, Office 97, Statistica, Microsoft, Corporation, USA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas 1 y 2 se observa que tanto el frijol como la arveja presentaron las cinco sustancias evaluadas. Todas sufrieron disminuciones a lo largo del almacenamiento, las cuales llegaron a ser significativas ($p < 0,05$) entre el primero y último muestreo.

Tabla 1. Ocurrencia natural de antinutrientes en frijol. Comportamiento durante el almacenamiento

	Abril/97	Julio	Octubre	Diciembre	Febrero/98	Abril/98
Taninos (g % de ácido tánico)	1,20 (0,007)a	0,69 (0,011)b	0,63 (0,007)c	0,63 (0,001)c	0,63 (0,04)c	0,36 (0,027)d
Ac. Cianhídrico (mg %)	1,63 (0,028)a	1,47 (0,056)b	1,42 (0,077)bc	1,33 (0,042)cd	1,23 (0,042)de	1,20 (0,007)e
Ac. Fítico (mg / g)	7,06 (0,021)a	5,41 (0,127)b	4,35 (0,001)c	4,27 (0,08)c	3,19 (0,014)d	3,04 (0,035)d
I. Tripsina (UTI / g) *	6,04 (0,12)a	6,06 (0,85)a	6,87 (0,85)b	7,07 (0,93)bc	9,42 (0,60)c	8,35 (0,25)cb

Valores medios de tres determinaciones. Las letras entre paréntesis indican el valor de la desviación estándar.

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Tabla 2. Ocurrencia natural de antinutrientes en arveja. Comportamiento durante el almacenamiento.

	Abril/97	Julio	Octubre	Diciembre	Febrero	Abril/98
Taninos (g % de ácido tánico)	1,18 (0,07)a	0,25 (0,004)c	0,33 (0,009)bc	0,33 (0,004)b	0,32 (0,02)b	0,33 (0,03)b
Ac. Cianhídrico (mg %)	1,43 (0,077)a	1,36 (0,035)ab	1,34 (0,03)ad	1,28 (0,021)bd	1,26 (0,021)bd	1,25 (0,021)cd

Ac. Fítico (mg / g)	6,74 (0,021)a	5,30 (0,042)b	5,21 (0,084)b	4,57 (0,007)c	3,23 (0,035)d	2,25 (0,01)e
I. Tripsina (UTI / g)	2,98 (0,12)	3,37 (0,12)	2,52 (0,36)	3,43 (1,35)	3,53 (0,82)	2,13 (0,05)

Valores medios de tres determinaciones. Letras entre paréntesis indican el valor de la desviación estándar

Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los taninos mostraron un decremento significativo ($p < 0,05$) de sus concentraciones a partir del segundo muestreo, manteniendo un comportamiento similar hasta terminar el estudio, lo que puede estar relacionado con las condiciones de almacenamiento y las características físicas de los granos provocando cambios en su estructura (Bressani *et al.*, 1991) o debido a la acción de insectos hallados durante el almacenamiento (datos no publicados) donde pudo ocurrir una modificación de la estructura de los granos y por ende sus concentraciones (Jood *et al.*, 1995). Los mayores valores se observaron en el frijol (coloración oscura) aspecto que se ha relacionado con el hecho de que leguminosas con colores más intensos muestran más resistencia a las enfermedades que aquellas de colores claros (Abreu, 1987).

En condiciones de almacenamiento de altas temperaturas y humedad relativa como el presente estudio, otros autores han encontrado un aumento de las concentraciones de taninos condensados respecto al tiempo inicial de almacenamiento y posterior disminución al final de esta etapa (Siewwright y Shipe, 1986; Iaderoza *et al.*, 1989). Existen datos de la disminución de la fracción de polifenoles totales y polifenoles no

taninos en variedades de *P. vulgaris* entre el frijol fresco y endurecido almacenado por 5 años, (Martín-Cabrejas *et al.* 1997), no así para los taninos los que aumentaron su concentración probablemente por ser compuestos derivados de estructuras de bajo peso molecular sintetizadas a partir de material no tanino, indicando cambios bioquímicos que ocurren durante el almacenamiento los que están determinados por la edad del grano y las condiciones de almacenamiento (Siewwright y Shipe, 1986), la acción de enzimas como la polifenoloxidasas y peroxidasas (Rozo, 1982; Fry, 1986) provocando su oxidación y a cambios que pueden sufrir al comprometer su estructura con componentes de la pared celular o formar complejos estables con proteínas, vitaminas e hidratos de carbono lo que dificulta su cuantificación (Vidal-Valverde *et al.*, 1994; García *et al.*, 1998).

Las concentraciones de cianuro encontradas en ambas leguminosas son relativamente bajas y están dentro del rango de 10-20 mg de cianuro / 100g estimado como seguro. Los valores encontrados son similares a los publicados para leguminosas por otros autores (Honeg *et al.*, 1983; Deshpande y Damodaran, 1990; Colomé *et al.*, 1993), encontrándose las mayores

concentraciones para el frijol. Algunas variedades de *P. lunatus* pueden contener concentraciones que oscilan entre 14.4 y 167 mg /100g (Valle, 1991).

El ácido fítico presente en el frijol y la arveja disminuyó con el tiempo, obteniéndose los valores más altos para el frijol. Este comportamiento puede estar asociado a la acción de las fitasas que se activan cuando el almacenamiento es a altas temperaturas y humedades hidrolizando el ácido en myo-inositol y fosfato inorgánico (Moscoso, 1982; Bhaty y Slinkard, 1989; Gustafsson y Sandberg, 1995), al aporte de estas enzimas por microorganismos (Maga, 1982) o debido a daños estructurales que sufren los granos en esta etapa de la poscosecha, facilitando el contacto enzima-sustrato o por la elevada infestación por insectos antes comentada, que pudo contribuir a modificar las concentraciones de fítico en el tiempo (Jood *et al.*, 1995).

En el frijol se observan incrementos aparentes de la actividad inhibitoria de proteasas, sin embargo esos cambios son solamente estadísticamente demostrables ($p < 0,05$) entre el primero y último muestreo. La actividad detectada en la arveja fue similar no existiendo diferencias significativas ($p < 0,05$) con el tiempo de almacenamiento.

Las actividad hemoaglutinante de las lectinas disminuyó con el tiempo presentando especificidad para los tres grupos sanguíneos ensayados (Tabla 3). La naturaleza proteica de estos compuestos hace que puedan disociarse en subunidades y volverse a recombinar modificando sus funciones, además que tienen la capacidad de unirse a taninos presentes en el grano y de esta forma reducir o perder su actividad (Fish y Thompson, 1991; Oriana *et al.*, 1997).

Tabla 3. Cambios en la actividad hemoaglutinante del frijol y arveja crudos en eritrocitos humanos (*).

Muestras	Grupo A ⁺		Grupo B ⁺		Grupo O ⁺	
	Frijol	Arveja	Frijol	Arveja	Frijol	Arveja
Abril / 97	1:64	1:32	1:64	1:32	1:64	1:32
Abril / 98	1:32	1:4	1:32	1:4	1:32	1:4

(*) Los valores representan la última dilución en que se evidencia aglutinación al cabo de 1h.

Las pérdidas de las sustancias bioquímica del grano durante esta etapa, estudiadas entre el primero y último muestreo (Tabla 4) indican la actividad además de la influencia de agentes

externos como microorganismos e insectos.

Tabla 4. Pérdidas de los antinutrientes en los granos crudos entre el primero y último muestreo

	Pérdidas (%)			
	Taninos	Ác. cinahídrico	Ac. fítico	I. Tripsina
Frijol	70,20	26,08	56,91	-
Arveja	71,17	12,55	66,62	28,52

- no se detectó disminución de la actividad

Después de aplicados los tratamientos de remojo y cocción, tres de los antinutrientes fueron eliminados totalmente: el ácido cinahídrico, los inhibidores antitripticos y las lectinas. En el primer caso, el remojo contribuyó a hidrolizar el glicósido y liberar el cianuro (Conn, 1981), comprobándose que el tratamiento térmico sin previo remojo fue suficiente para favorecer la volatilización del ácido.

Los inhibidores de tripsina por su propia naturaleza proteica pueden sufrir desnaturalización modificando su actividad, además que el tiempo de cocción mínimo para el frijol fue de 40 minutos y para la arveja de 20 minutos (tiempo cero) y existen evidencias que los inhibidores presentes en frijol negro (*P. vulgaris*) pueden ser eliminados en un 80 % a los 9 minutos de cocción (Bonilla *et al.*, 1991). Estudios realizados por Egbe y Akinyele (1990) en el frijol de lima indicaron la disminución total de los inhibidores de tripsina después de la cocción. Bishoi y Khetarpaul (1994), obtuvieron

resultados similares en diferentes variedades de arveja.

Las lectinas fueron eliminadas en ambos granos por los dos tratamientos aplicados. Estos compuestos pueden desdoblarse o desnaturalizarse perdiendo su poder aglutinante y sufrir una rápida eliminación por calor húmedo incluso en sólo 15 minutos de cocción (Liedner, 1991). Los tratamientos aplicados (Tablas 5 y 6) ejercen una acción benéfica sobre el grano ya que en la mayoría de los casos se observan disminuciones de los antinutrientes respecto al grano crudo. En los taninos se obtuvo un incremento respecto a las concentraciones halladas para el grano crudo, que fue menor cuando se aplicó el tratamiento conjunto de remojo y cocción, lo que puede asociarse a la liberación de los complejos formados por estas sustancias con nutrientes propios del grano como proteínas e hidratos de carbono debido a la acción de los tratamientos aplicados

depositándose en el caldo (Bressani y Elías, 1980).

Tabla 5. Concentraciones de antinutrientes en frijol después de los tratamientos aplicados. Comparación entre remojo-cocción y cocción directa.

Muestras	Taninos (1)		A. Fítico (2)		I. Tripsina (3)	
	R - C	C	R - C	C	R - C	C
Abril / 97	1,12*** (0,004)	2,34 (0,045)	3,44** (0,02)	3,91 (0,028)	n.d.	3,79 (0,45)
Julio	2,64*** (0,014)	1,56 (0,042)	0,70*** (0,014)	1,13 (0,001)	n.d.	3,71 (0,33)
Octubre	3,01 n.s. (0,021)	2,94 (0,056)	0,58*** (0,003)	0,96 (0,002)	n.d.	3,85 (0,36)
Diciembre	3,08** (0,049)	2,42 (0,01)	0,30*** (0,008)	0,93 (0,005)	n.d.	3,15 (0,01)
Febrero	2,38 n.s. (0,318)	2,55 (0,254)	0,45** (0,006)	0,57 (0,014)	n.d.	2,65 (0,26)
Abril / 98	0,16 n.s. (0,004)	0,15 (0,011)	0,96 n.s. (0,008)	0,97 (0,006)	n.d.	1,72 (0,20)

(1) Valores expresados en g / % de ácido tánico (2) Valores expresados en mg / g

(3) Valores expresados en UTI / g de muestra (base seca)

R - C: Remojo y cocción C : Cocción

Valores medios de tres determinaciones. Letras entre paréntesis indican el valor de la desviación estándar. n.s.: no existe diferencia significativa, $p < 0,05$

(**) Indica diferencia significativa, $p < 0,01$ entre R - C y C

(***) Indica diferencia significativa, $p < 0,001$ entre R - C y C

Tabla 6. Concentraciones de antinutrientes en arveja después de los tratamientos aplicados. Comparación entre remojo-cocción y cocción directa.

Muestras	Taninos (1)		A. Fítico (2)		I. Tripsina (2)	
	R - C	C	R - C	C	R - C	C
Abril / 97	2,91** (0,015)	1,27 (0,335)	3,08*** (0,028)	3,94 (0,008)	n.d.	1,97 (0,11)
Julio	2,44*** (0,05)	1,18 (0,021)	0,86*** (0,007)	1,21 (0,008)	n.d.	1,80 (0,54)
Octubre	2,36** (0,021)	1,42 (0,049)	0,86* (0,007)	0,91 (0,009)	n.d.	1,03 (0,33)
Diciembre	2,00 ** (0,042)	1,20 (0,084)	0,31*** (0,07)	0,96 (0,006)	n.d.	1,40 (0,21)
Febrero	1,99** (0,091)	1,23 (0,014)	0,44** (0,007)	0,68 (0,006)	n.d.	1,58 (0,22)
Abril / 98	1,24** (0,063)	0,54 (0,070)	0,91* (0,018)	1,02 (0,028)	n.d.	0,32 (0,2)

- (1) Valores expresados en g / % de ácido tánico
 - (2) Valores expresados en mg / g
 - (3) Valores expresados en UTI / g de muestra (base seca)
- R / C, Remojo y cocción
C, Cocción

Valores medios de tres determinaciones. Letras entre paréntesis indican el valor de la desviación estándar.

(**) Indica diferencia significativa, $p < 0,01$ entre R-C y R

(***) Indica diferencia significativa, $p < 0,001$ entre R-C y R

Resultados similares observaron Vidal-Valverde *et al* (1994) en lentejas tratadas de forma similar.

Otros autores han encontrado una reducción de los taninos después del remojo y la cocción en variedades de *P. vulgaris* y *P. sativum*, sin embargo hay que tener en cuenta las condiciones del ensayo (descascarado o no, eliminación del caldo para la determinación, etc.), la variedad, frescura del grano, tiempo, tipo de cocción y tiempo de almacenamiento (Kaur y Kapoor, 1990; Bishnoi *et al.*, 1994; Gustafsson y Sandberg, 1995; Ene-Obong y Obizoda, 1996). A pesar que algunos autores hablan que la disminución puede deberse a la degradación térmica (Chau y Cheung, 1997), los taninos son considerados dentro de los antinutrientes, sustancias termorresistentes (Bressani *et al.*, 1991) lo que indica que pudieran prevalecer de acuerdo a las condiciones antes comentadas.

El ácido fítico disminuyó ($p < 0,05$) después de la aplicación de los tratamientos en ambos granos. Resultados similares fueron publicados por Sharma y Segal en 1996 estudiando el efecto del remojo y la cocción sobre

el frijol de haba. Kaur y Kapoor (1990) también observaron un comportamiento similar en variedades de frijol-arroz.

Las reducciones observadas en este trabajo pueden ser el resultado de la acción de las fitasas presentes en el grano cuyas concentraciones dependen de la variedad a estudiar. Durante el remojo estas enzimas pueden actuar degradando el ácido y en la cocción, la temperatura óptima de actividad de la enzima es de 40 a 60°C lo que indica que durante el incremento de temperatura puede ocurrir también la hidrólisis del fitato hasta que se alcance una temperatura tal que se inactive la enzima. Se habla de degradación térmica de los fitatos, aunque en general el comportamiento es muy variable de acuerdo al tipo de grano (Maga, 1982). Otro aspecto que influye en la disminución del fítico después de los tratamientos es el pH al cual actúan las fitasas, existiendo diferentes criterios. Gustafsson y Sanberg (1995) discutieron en un estudio realizado sobre la reducción del fitato en frijol colorado que en determinadas variedades el pH óptimo es de 5,2-5,3. Sin embargo, otros autores afirman que la actividad óptima es a pH 8, lo que indica que este es otro

parámetro a tener en cuenta para poseer mayores criterios sobre la degradación de este compuesto durante los tratamientos aplicados.

Es válido comentar que el tiempo de cocción es una variable que influye en las concentraciones halladas de los antinutrientes y que en este trabajo las sustancias fueron determinadas en los diferentes tiempos de cocción en los que el grano había adquirido la textura adecuada para el consumo.

CONCLUSIONES

El frijol colorado (*P. vulgaris*) y la arveja (*P. sativum*) crudos contienen taninos, inhibidores de proteasas, ácido cianhídrico, lectinas y ácido fítico. Todos variaron sus concentraciones durante el año de almacenamiento comercial, disminuyendo significativamente ($p < 0,05$) entre el primero y último muestreo. Los tratamientos caseros eliminaron el ácido cianhídrico, los inhibidores de tripsina y las lectinas y redujeron el resto de los antinutrientes, excepto los taninos que aumentaron más cuando los granos se sometieron a remojo y cocción. La combinación de estos tratamientos resultó en general más eficiente que la aplicación de la cocción sola.

BIBLIOGRAFÍA

ABREU, M. 1987. Los polifenoles en los alimentos y sus efectos nutricionales. *En: Revista CNIC*. Vol.18, No.3 (1987); p. 109-112.

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 15. Cuantificación de fitatos. 1990, pp 800-801.

AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 15. Hydrocyanic acid in beans, 1990. p.1213.

BARAMPAMA, Z. y SIMARD, R. Oligosaccharides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *En: Journal of Food Science*. Vol. 59, No. 4 (1994); p.836.

BERNAL-LUGO, CASTILLO, A.; DÍAZ DE LEÓN, F.; MORENO, E. y RAMÍREZ, J. Does phytic acid influence cooking rate in common beans?. *En: Journal of Food Biochemistry*. Vol. 15 (1991); p.367.

BHATTY, R. y SLINKARD, A. Relationship between phytic acid and cooking quality un lentil. *En: Journal of the Central Institute of Science Technoly and Aliments*. Vol.22, No. 2 (1989); p.137.

BILBAO, T., HAMPE, S., LEDESMA, L. y GONZÁLEZ, N. Evaluación de algunos tóxicos naturales en dos variedades de *Phaseolus vulgaris*. *En: Revista de la Facultad de Ingeniería Química*. No.31 (1996); p.17-19.

BISHNOI, S. y KHETARPAUL, N. Saponin content and inhibitor of pea cultivars: effect of domestic processing and cooking methods. *En: Journal of Food Science and Technology*. Vol. 31, No.1 (1994); p.73.

BISHNOI, S., KHETARPAUL, N. y YADAV, R. Effects of domestic processing and cooking methods on phytic acid and polyphenol contents of pea cultivars (*Pisum sativum*). *En: Plant Foods Human Nutrients*. Vol.45, No.4 (1994); p.381.

BONILLA, A., CALZADA, C. y COOKE, R. Effects of traditional cooking on antinutritional factors of the black bean (*Phaseolus vulgaris*) of Costa Rica. *En: Archives of Latinoamerican Nutrition*. Vol.41, No.4 (1991); p.609.

COLOMÉ, C., BILBAO, T., LEDESMA, L. y ZUMÁRRAGA, R. Evaluación preliminar de algunos tóxicos naturales en leguminosas de mayor consumo en el estado de Yucatán. *En: Tecnología de los Alimentos*. Vol. 28, No.4/5/ y 6 (1993); p.13.

CONN, E. Unwanted biological substances in Foods: Cyanogenic Glycosides. *En: AYRES, J. y KIRSCHMAN, J. (Eds.). Impact of Toxicology on*

- Food Processing. Westport, Connecticut: Avi, 1981. p 105-121.
- CHAU, C. y CHEUNG, P. Effects of various processing methods on antinutrients and in vitro digestibility and starch of two Chinese indigenous legume seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.45 (1997); p.4773.
- DesHPANDE, S. y DAMODARAN, S. Food legumes: chemistry and technology. *En: Advances in Cer. Science and Technology*. Vol.10 (1990); p.147.
- EGBE, I. y AKINYELE, I. Effects on cooking on the antinutritional factors of lima beans (*Phaseolus lunatus*). *En: Food Chemistry*. Vol.35, No.2 (1990); p.81.
- ENE-OBONG, K. y OBIZODA, I. Effects of domestic processing on the cooking time nutrients, antinutrients and in vitro protein digestibility of the african yambean (*Sphenostylis stanoscarpa*). Vol.49, No.1 (1996); p.43.
- FIGUEROA, M. y LAJOLO, F. Effect of chemical modifications of *Phaseolus vulgaris* lectins on their biological properties. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.45, No.3 (1997); p.639.
- FISH, B. y THOMPSON, L. Lectin-tannin interactions and their influence on pancreatic amylase activity and starch digestibility. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.39, No. 4 (1991); p.727.
- FRY, S. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *En: Annual Review of Plant Physiology*. Vol.37 (1986); p.165.
- GARCÍA, E.; FILISSETTI, T.; UDAETA, J. y LAJOLO, F. Hard to cook beans (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of phenolic compounds and pectates. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.46, No. 6 (1998); p.2110.
- GONZÁLEZ, R., CARRILLO, O. y PÉREZ, F. Manual de prácticas de laboratorio de nutrición. s.l.: Pueblo y Educación, 1986. p. 10-12.
- GUSTAFSSON, E. y SANDBERG, A. Phytate reduction in brown bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *En: Journal of Food Science*. Vol. 60, No.1 (1995); p.149.
- HONIG, D., HOCKRIDGE, M., YOULD, R. y DACKIS, J. Determination of cyanide in soybeans and soy products. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 31, No.2 (1983); p.5.
- IADEROZA, M., SALES, A., BALDINI, A., SARTORI, M. y FERREIRA, V. Polyphenoloxidase activity and changes in colour and condensed tannin contents in nine bean (*Phaseolus vulgaris L.*) cultivars during storage. *En: Coletanea do Instituto de Tecnología de Alimentos*. Vol.19, No.2 (1989); p.154.
- ISO-9648: 1988(E). Sorgo. Determinación del contenido de taninos. p 12-15.
- JAFFÉ, W. y BRUCHER, O. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). *En: Archives of Latinoamerican Nutrients*. Vol. 22 (1972); p. 267-281.
- JOOD, S., KAPOOR, A. Y SINGH, R. Polyphenol and phytic acid contents of cereal grains as affected by insect infestation. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.43, No.2 (1995);p.435.
- KAUR, D y KAPOOR, A. Some nutritional factors in rice bean (*Vigna umbellata*) :effects of domestic processing and cooking methods. *En: Food Chemistry*. Vol. 27, No.2 (1990); p.171.
- LINDNER, E. Toxicología de los Alimentos. Madrid: Acribia, 1990. p.1.
- LÓPEZ, R. Diseño estadístico de Experimentos. México: Cietífico Técnica, 1994. p. 137-154.
- MAGA, J. Phytate: Its Chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance and methods of analysis. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.30; No.1 (1982); p.1.
- MARTÍN-CABREJAS, M.; ESTEBAN, R.; PÉREZ, P.; MAINA, G. and WALDRON, K. Changes in physicochemical properties of dry beans (*Phaseolus vulgaris L.*) during long-term storage. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.45, No.8 (1997); p.3223.

- MOSCOSO, W. Efecto del almacenamiento a temperatura y humedad altas sobre algunas características físicas químicas del frijol. *En: Archives of Latinoamerican Nutrients*. Vol.32, No.2 (1982); p.342.
- ROZO, C. Effect of extended storage on the degree of thermal softening during cooking cell wall components and polyphenolic compounds of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *En: Dissertation Abstracts International*. Vol. 42, No.12 (1982); p.4732.
- SHARMA, A. and SEHGAL, S. Effects of processing and cooking on the antinutritional factors of faba bean (*Vicia faba*). *En: Food Chemistry*. Vol.43, No.5 (1992); p.383.
- SIEVWRIGHT, C. and SHIPE, F. Effect of storage conditions and chemical treatments on firmness, in vitro protein digestibility, condensed tannins, phytic acid and divalent cations of cooked black beans (*Phaseolus vulgaris*). *En: Journal of Food Science*. Vol. 51, No.4 (1986); p.982.
- VIDAL-VALVERDE, C., FRÍAS, J., ESTRELLA, I., GOROSPE, M., RUIZ, R. and BACON, J. Effect of processing on some antinutritional factors of lentils. *En: Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol.42 (1994); p.2291.