

La Cocción de Frijoles, (*Phaseolus vulgaris*)

WERNER G. JAFFÉ y MARÍA ELENA FLORES

Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Central. Apartado 10098.
Caracas, Venezuela.

RESUMEN

Frijoles de tres variedades se remojaron por 2 h y luego se cocinaron por 2 h a 85°C ó por 30 min en autoclave a 15 lb de presión. Como medio de remojo y cocción se usó agua destilada, ácido acético al 0.1% ó una solución de bicarbonato de sodio al 0.1%. La actividad de los Inhibidores tripticos y quimotripticos quedó destruída por todos los tratamientos, no así la actividad del inhibidor de amilasa y de las hemaglutininas. La cocción a 85°C resultó en mejorar la digestibilidad y la capacidad de las dietas preparadas con las semillas así tratadas de inducir crecimiento en las ratas. Sin embargo, con una excepción, estos valores fueron inferiores a los observados con las semillas cocidas en autoclave. No había correlación entre la actividad de inhibición de tripsina, quimotripsina y amilasa de los frijoles tratados y su valor nutricional, pero la actividad hemaglutinante estuvo en relación inversa con la capacidad de inducir crecimiento en ratas.

Se concluyó que la actividad de los inhibidores enzimáticos no es índice útil para determinar la eficiencia de los tratamientos térmicos de los frijoles. La prueba de hemaglutinación resultó ser más apropiada. Además, se concluyó que las variedades de frijoles con baja actividad hemaglutinante son preferibles cuando, por razón de la situación geográfica a altas alturas sobre el nivel del mar o cualquier otra circunstancia, no está asegurada una cocción completa.

INTRODUCCION

Los frijoles crudos son tóxicos. Por cocción adecuada se elimina la toxicidad (1) mientras que el calentamiento en exceso puede resultar en una reducción del valor nutricional (2). Por lo tanto, es importante conocer las condiciones de cocción, que resulten en la destrucción de las propiedades antinutricionales con un mínimo de calentamiento. Otra razón para el interés en conocer las condiciones mínimas de cocción son la escasez y alto costo de combustibles, factores que frecuentemente,

son de importancia en la economía familiar de grupos de población desposeídos. Además, hay que considerar el hecho de que numerosa población latinoamericana habita en regiones montañosas en donde, por su situación geográfica a grandes alturas sobre el nivel del mar, la temperatura de ebullición del agua está por debajo de los 100°C, condición que influye en el proceso de la cocción. Estas consideraciones nos indujeron a emprender un estudio sobre la cocción de frijoles bajo condiciones de mínimo calentamiento y sus efectos sobre factores antinutricionales y valor alimenticio de los mismos.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron lotes de semillas de tres variedades de frijoles (*Phaseolus vulgaris*): caraotas negras del cultivar "Cubagua" y frijoles blancos y rojos, estas dos últimas variedades comerciales. Las semillas habían sido almacenadas en el laboratorio a temperatura y humedad ambiente aproximadamente 24°C y 80% saturación, por aproximadamente 8 meses, previo al inicio de los ensayos. Los lotes se sometieron a cinco diferentes tratamientos. Primero se remojaron durante dos horas a temperatura ambiente y con agitación ocasional. La proporción medio-semilla fue de 2:1. Los medios usados para remojar las muestras fueron: agua destilada, solución de CH₃COOH al 0.1% y solución de NaHCO₃ al 0.1%. Dos de las tres muestras remojadas en agua destilada fueron luego autoclaveadas durante 30 min, a 15 lbs de presión. A una de ellas se le separó la cutícula pasándola a través de una malla metálica. Las otras muestras fueron cocidas en baño de María a 85°C durante dos horas. Después de los diferentes tratamientos fueron secadas por corriente de aire a temperatura ambiente y molidas en un molino Wiley de laboratorio.

En cada ensayo fue incluida una muestra de semillas crudas como control.

Las dietas se prepararon siempre con el agregado de metionina para facilitar la detección de los efectos tóxicos en los ensayos biológicos (1).

Se usaron 6 ratas por experimento; 3 de cada sexo, de 4 semanas de edad y un peso inicial de 60-70 g. Como comparación se incluyó una dieta a base de caseína. La duración de los ensayos biológicos fue de 2 semanas.

TABLA 1
COMPOSICION DE LAS DIETAS

Frijoles c.s.p.	10% proteína
Mezcla de sales U.S.P. XIV	4%
Mezcla completa de vitaminas (1) ..	1%
Aceite de maíz	5%
Aceite de hígado de bacalao	1%
D, L-metionina	0.3%
Almidón de yuca/c.s.p.	100%

La digestibilidad aparente se calculó por el método de balance de nitrógeno ingerido y fecal (3) determinada mediante micro-Kjeldhal y se calculó en cada caso el cambio del peso del animal por gramo de proteína consumida.

El poder hemaglutinante de los extractos se determinó usando un equipo de "Micro-Titer" (Coke Eng. Comp. Alexander, Virginia, U.S.A.) según la técnica descrita anteriormente (4). Los eritrocitos usados (buey y conejo) se prepararon de sangre tratada con citrato como anticoagulante y se sometieron a tres lavados en solución de NaCl al 0.85%. Para su activación se procedió como sigue: Una suspensión de glóbulos de buey al 4% con 10 ml de suero fisiológico se sometió a digestión por una hora a 37°C con 1 mg de tripsina cristalizada. Glóbulos de conejo al 4% en 10 ml de suero fisiológico se trataron durante 30 min con 1 mg de pronasa (Calbiochem); posteriormente ambas suspensiones fueron centrifugadas y lavadas tres veces con NaCl 0.85% y suspendidas al 4% para uso posterior.

Los inhibidores de tripsina y quimotripsina fueron determinados usando los métodos de Kakade y col. (5, 6). Los extractos se prepararon por suspensión de las semillas molidas en agua destilada en la proporción 1:20 ajustando el pH a 7.6. Se agitaron durante una hora a temperatura ambiente y se centrifugaron. Una alícuota del sobrenadante fue diluida en proporción de 1:50 en buffer de borato y fosfato respectivamente, para la determinación de los inhibidores de la quimotripsina y la tripsina. Para la determinación del inhibidor de amilasa se usó el método de Bernfeld (7) con la modificación de este laboratorio (8). Los extractos se prepararon en solución de NaCl al 1% en la proporción 1:10, con 2 horas de agi-

tación. Las enzimas usadas para determinar la actividad inhibidora de los extractos fueron: tripsina, 40 mcg/ml, quimotripsina, 40 mcg/ml, y pancreatina (Merck) 40 U/ml al 1% en buffer fosfato pH 6.9.

La digestibilidad proteica se determinó "in vitro" por digestión de las muestras finamente molidas, con pepsina por 3 horas, seguido por una digestión con pancreatina (Merck) por 24 horas y determinación del nitrógeno en el sobrenadante de la precipitación con ácido tricloroacético.

En la Tabla 2 se indican los cálculos estadísticos correspondientes a los índices de digestibilidad "in vivo" y a los cambios de peso por animal por día y por proteína consumida. En las columnas marcadas "A" se comparan los resultados de los 18 experimentos con relación al experimento N^o 5. Las columnas marcadas "B" se refieren a los mismos resultados, pero comparándolos dentro de cada variedad de caraoatas, tomando como patrón las muestras autoclaveadas N^o 5, 11 y 18. Para los ensayos con frijoles blancos, ambas columnas contienen, por lo tanto, valores idénticos. Se utilizó un nivel de significación de 95% con 5 grados de libertad.

RESULTADOS

En los experimentos efectuados con las tres muestras crudas se observaron índices de digestibilidad "in vitro" e "in vivo" muy bajos. Las tres variedades de frijoles tenían niveles elevados de inhibidores de amilasa, de tripsina y de quimotripsina, como también de actividad hemaglutinante.

Después de la cocción en el autoclave la digestibilidad aumentó a valores que, aunque más elevados, eran inferiores al de la caseína. La prueba de hemaglutinación resultó débilmente positiva con los eritrocitos de buey en los extractos correspondientes a las muestras de frijoles blancos y negros autoclaveados, mientras que los extractos de frijoles rojos cocidos en el autoclave aglutinaban de manera franca, lo que significa que estas últimas son portadores del tipo más tóxico de hemaglutininas (4). La actividad de inhibición frente a la tripsina y la quimotripsina había desaparecido después de la cocción en autoclave, mientras que la inhibición de la amilasa disminuyó a valores tan bajos, que su medición se hizo difícil (Tabla 1 y 2).

TABLA 2
PRUEBAS BIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS CON TRES VARIETADES DE FRIJOLES SOMETIDOS A DISTINTOS PROCESOS DE COCCIÓN

VARIEDAD	TRATAMIENTOS	Digestibilidad		I	II	III	IV	V
		"in vivo"	"in vitro"					
1	BLANCAS CRUDAS	15.6 ± 5.3 *	31.6	0.7 ± 0.3 ^A ^B	-1.7 ± 0.8 ^A ^B	185.6	16.3	15.8
2	Cocidas en H ₂ O dest., 85°C	48.7 ± 4.3 *	62.9	2.4 ± 0.4 *	2.3 ± 0.4 *	23.7	0.0	0.0
3	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0.1%, 85°C	46.6 ± 3.3 *	49.3	2.0 ± 0.5 *	2.0 ± 0.3 *	30.1	0.0	0.0
4	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0.1%, 85°C	52.9 ± 3.8 *	56.3	3.4 ± 0.9 NS	3.0 ± 0.5 NS	34.3	0.0	0.0
5	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	71.2 ± 2.6	87.8	4.1 ± 0.6	3.1 ± 0.3	2.8	0.0	0.0
6	Cocid. autoclave 15 lbs. 30' decort.	73.9 ± 3.9 NS	92.0	3.6 ± 0.9 NS	2.7 ± 0.4 *	0.0	0.0	0.0
NEGRAS "Cubagua"								
7	CRUDAS	18.2 ± 3.0 * *	31.0	-1.2 ± 0.2 * *	-2.0 ± 0.4 * *	170.1	15.3	17.2
8	Cocidas en H ₂ O dest., 85°C	45.0 ± 3.8 * *	48.2	2.5 ± 1.0 * *	2.0 ± 0.4 * *	17.2	0.0	0.0
9	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0.1%, 85°C	46.3 ± 4.4 * *	38.7	2.4 ± 0.4 * *	2.2 ± 0.1 * *	24.7	0.0	0.0
10	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0.1%, 85°C	47.4 ± 4.4 * *	43.4	2.8 ± 0.6 * *	2.6 ± 0.3 * *	11.8	0.0	0.0
11	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	68.9 ± 2.1 NS	73.1	4.5 ± 0.6 NS	3.3 ± 0.3 NS	1.6	0.0	0.0
12	Cocid. autoclave 15 lbs. 30' decort.	70.1 ± 3.4 NS NS	74.6	4.3 ± 0.6 NS NS	2.9 ± 0.4 NS *	2.4	0.0	0.0
ROJAS								
13	CRUDAS	14.3 ± 2.6 * *	30.0	-1.4 ± 0.2 * *	-2.33 ± 0.4 * *	144.0	32.0	7.4
14	Cocidas en H ₂ O dest., 85°C	50.4 ± 2.0 * *	64.8	0.9 ± 0.3 * *	1.7 ± 0.6 * *	17.0	0.0	0.0
15	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0.1%, 85°C	48.0 ± 4.2 * *	37.9	-0.4 ± 0.2 * *	-0.8 ± 0.6 * *	11.4	0.0	0.0
16	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0.1%, 85°C	45.9 ± 4.3 * *	59.4	0.8 ± 0.6 * *	1.5 ± 0.4 * *	8.3	0.0	0.0
17	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	67.1 ± 2.1 *	82.1	3.1 ± 0.8 *	2.8 ± 0.2 *	0.3	0.0	0.0
18	Cocid. autoclave 15 lbs. 30' decort.	69.5 ± 2.4 NS *	83.0	2.7 ± 0.5 * NS	2.6 ± 0.3 * NS	7.1	0.0	0.0
19	CASEINA	91.0 ± 2.1	100.0	4.3 ± 0.8	2.9 ± 0.4			

I - Cambio de peso (g)/animal/día.

II - Cambio de peso (g)/proteína consumida.

III - Unidades de inhibición de amilasa/gramo de muestra.

IV - Unidades de inhibidor tríplico/gramo de muestra.

V - Unidades de inhibidor quilmotriptico/gramo de muestra.

* Estadísticamente significativo (diferentes) NS: no significativo. Columna A: Comparación con el valor correspondiente a la muestra Nº 5, frijoles blancos cocidos en autoclave, Columna B: Comparación con los valores de las mismas variedades cocidas en autoclave (Nº 5, 11, 17 resp.)

El crecimiento de las ratas que fueron alimentadas con dietas preparadas con frijoles cocidos en autoclave y suplementadas con metionina, fue comparable al de los animales que consumieron la dieta control de caseína, con excepción de las ratas alimentadas con frijoles rojos que crecieron menos.

También el índice de eficiencia proteica fue menor en este caso, comparado con el valor observado en el ensayo N° 5 con frijoles blancos cocidos en autoclave y con el valor control de caseína.

De los datos reportados en la Tabla 1 se deduce que la cocción por 2 horas a 85°C de los frijoles previamente remojados por 2 horas resultó insuficiente para lograr que la digestibilidad medida "in vitro" e "in vivo" llegara a valores similares de las semillas cocidas en autoclave. Igualmente se puede observar la persistencia de una considerable actividad hemaglutinante en las muestras negras y rojas, (Tabla 2) aunque no era posible detectar actividad inhibidora sobre la tripsina y la quimotripsina. El aumento de peso de los animales alimentados con las dietas correspondientes y los valores de la eficiencia proteica fueron inferiores en los experimentos efectuados con los frijoles cocidos a 85°C en comparación con los calentados en autoclave.

La cocción en presencia de bicarbonato de sodio a 85°C dió resultados superiores en comparación con la cocción en presencia de ácido acético y con agua destilada, tanto en relación a la digestibilidad como a su efecto sobre crecimiento y eficiencia proteica. La digestibilidad de los frijoles cocidos en autoclave y decorticados fue ligeramente más elevada comparada con las semillas enteras. Sin embargo, los valores de la eficiencia proteica de las últimas muestras fueron superiores a las de los primeros en los experimentos con los 3 tipos de frijoles.

DISCUSION

Los resultados señalados, además de confirmar observaciones previas, permiten algunas conclusiones de importancia sobre el problema de la cocción de frijoles. La baja digestibilidad de las semillas crudas y la pérdida de peso de los animales alimentados con dietas preparadas con éstas, ha sido observada previamente en este tipo de experimentos (1). Estos

efectos no se pueden atribuir, por lo menos no exclusivamente, a la presencia de inhibidores tripticos o quimotripticos, como lo demuestran los resultados de los experimentos efectuados con frijoles cocidos a 85°C, porque en este caso no se pudieron detectar estos inhibidores y sin embargo, tanto el cociente de digestibilidad como el crecimiento de los animales correspondientes eran muy bajos comparados con los valores obtenidos con las semillas cocidas en el autoclave.

Al comparar las tres variedades de frijoles entre sí, se detectan grandes diferencias. La variedad blanca era la menos tóxica. Sólo en ella la cocción a 85°C en presencia de bicarbonato de sodio era suficiente para que el crecimiento y la eficiencia proteica en las ratas que las consumieron, resultaran iguales a los valores correspondientes obtenidos con las semillas cocidas en autoclave, aunque la digestibilidad siempre fue superior en el último caso. Los frijoles rojos eran los más tóxicos y los que menos mejoraron sus cualidades nutricionales por la cocción incompleta. Las diferencias eran tan importantes y consistentes que parece recomendable considerar este aspecto en las semillas que se usen en las labores de extensión agrícola y en la selección genética de frijoles. Los valores para la actividad inhibidora de amilasa eran más elevadas en las diversas muestras de frijoles blancos, lo que demuestra que este factor no es el principal responsable de la reducida capacidad de inducir el crecimiento de ratas observado en los frijoles parcialmente cocidos.

Las dietas preparadas con frijoles crudos producían pérdidas de peso y diarrea. Los ensayos no se prolongaron por tiempo suficiente para causar la muerte, que suele ocurrir en las ratas así tratadas al cabo de 2-3 semanas (1). En los animales alimentados con frijoles cocidos a 85°C no se observó diarrea ni ningún otro signo de toxicidad franca, con excepción del crecimiento lento.

Llama la atención de que en todos los casos, los animales crecieron mejor, cuando se alimentaron con dietas preparadas con frijoles autoclaveados enteros, comparado con aquellos que recibieron dietas con frijoles colados, aunque estos últimos mostraron índices de digestibilidad superiores a los primeros. La explicación más probable debe buscarse, por lo tanto, en la comparación de la cáscara eliminada por el cola-

do. Al recordar que todas las dietas fueron preparadas con el agregado de 0,3% de D, L-metionina, es poco probable que la diferencia referida se debe a un contenido más elevado de aminoácidos azufrados en la cáscara.

El cambio de peso de los animales experimentales (Tabla 1) y la actividad hemaglutinante (Tabla 2) guardan una relación inversa. Las semillas que presentaron mayor título de hemaglutinación con eritrocitos de buey tripsinados, produjeron mayor pérdida de peso en las ratas, que consumieron las dietas correspondientes. El pequeño número de muestras estudiadas en el presente trabajo no permite llegar a conclusiones definitivas acerca de la importancia relativa de las hemaglutininas en frijoles. Sin embargo, en un estudio con mayor número de muestras se había demostrado la resistencia a la inactivación por el calor de las fitohemaglutininas más tóxicas de los frijoles (4) de manera que los resultados del presente trabajo confirman y amplían las conclusiones previas.

En algunos programas de alimentación infantil se han usado mezclas de frijoles y cereales molidos que requieren poca cocción para su preparación. En estas circunstancias, la completa inactivación de las hemaglutininas no está siempre garantizada y en consecuencia se han observado casos de diarrea en los niños que consumieron dichas mezclas y que hicieron necesaria la suspensión del referido programa (10). Sería por lo tanto, interesante seleccionar para todos los casos de posible cocción insuficiente, variedades de frijoles, como los blancos de los presentes ensayos, que requieren un tratamiento térmico mínimo. Según los datos de la Tabla 2, la prueba de la aglutinación es más sensible si es hecha con eritrocitos de buey, activados con tripsina que con eritrocitos de conejo. Además, hemos demostrado en trabajos previos (4, 15), que existen cultivares de frijoles tóxicos, que no aglutinan estos últimos. Por lo tanto, se recomienda el uso de glóbulos rojos de buey para esta prueba. Por la sencillez del método, la detección de inhibidores trípticos y quimotrípticos en leguminosas se ha usado frecuentemente como un índice de la efectividad de los tratamientos térmicos. Nuestros resultados comprueban, sin lugar a dudas, que este procedimiento es inadecuado, porque la desaparición de cantidades detectables de estos inhibidores no coincide con el tratamiento térmico que

resulta en el mayor cociente de digestibilidad y mayor inducción de crecimiento. Esto no significa que los inhibidores tróficos y quimotróficos no tengan ningún papel antinutricional (12).

En ningún caso, excepto uno solo en los experimentos presentados, la cocción a 85°C por 2 horas, previo un período de remojo de igual duración, fueron suficientes para lograr crecimiento y eficiencia proteica satisfactorias con dietas preparadas a base de frijoles así tratados (Tabla 2), aunque en estos casos no se observaron los síntomas de franca toxicidad que siempre presentan los animales que consumieron los frijoles en forma cruda. Los frijoles cocidos en estas condiciones eran más duros que los cocidos en el autoclave y presentaron un ligero sabor extraño.

Los ensayos biológicos utilizados en la presente investigación son poco prácticos para ser aplicados en trabajos de selección de variedades, donde se prefieren pruebas sencillas de métodos "*in vitro*". Según los resultados presentados, las pruebas de digestibilidad y la hemaglutinación puede servir para este fin. La última es mucho más sencilla que la primera y permite la ejecución de un gran número de análisis simultáneamente, condición muy importante para los trabajos genéticos. Se debe incluir siempre un testigo preparado por un extracto de frijol de actividad positiva conocida, porque no todas las muestras de sangre de buey son apropiadas para la prueba (11). Este método no es aplicable a otras leguminosas.

El tiempo de cocción en el autoclave de 30 min utilizado en los presentes ensayos, es probablemente excesivo. Molina y col. (13) observaron que 10 min de tratamiento en autoclave era el tiempo óptimo para lograr un valor nutritivo elevado al trabajar con frijoles negros recién cosechados y aplicando mayor tiempo de remojo que nosotros, mientras que un calentamiento de 20 min resultó mejor con semillas almacenadas por tres meses. En experimentos efectuados recientemente en este laboratorio, trabajando con frijoles que se habían almacenado por 8 meses y aplicando un tiempo de remojo de 2 horas se observaron valores óptimos de digestibilidad, cuando la cocción en autoclave se prolongó por 20 min (14). Por lo tanto, es de esperar que hubiéramos obtenido valores para la digestibilidad y la eficiencia proteica mayores a los obser-

vados en el presente estudio, al aplicar la cocción en autoclave por un tiempo más corto. Sin embargo, este hecho no afecta a ninguna de las conclusiones del presente estudio.

TABLA 3
ACTIVIDAD HEMAGLUTINANTE DE EXTRACTOS DE FRIJOLES
CRUDOS O SOMETIDOS A DIVERSOS TRATAMIENTOS TERMICOS

Variedad	Tratamiento	Título de Hemaglutinación	
		I	II
BLANCA	CRUDAS	+7	+6
	Cocidas en H ₂ O dest. 85° C.	0	+2
	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0,1% 85° C	+1	+1
	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0,1% 85° C	+2	0
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	+1	+1
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30' decort.	0	0
NEGRA "Cubagua"	CRUDAS	+8	+8
	Cocidas en H ₂ O dest. 85° C.	0	+5
	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0,1% 85° C.	0	+5
	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0,1% 85° C.	0	+4
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	0	+2
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30' decort.	0	+1
ROJA	CRUDAS	+8	+11
	Cocidas en H ₂ O dest. 85° C.	+2	+6
	Cocidas en sol. CH ₃ COOH 0,1% 85° C.	+2	+6
	Cocidas en sol. NaHCO ₃ 0,1% 85° C.	+1	+7
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30'	+2	+4
	Cocidas en autoclave 15 lbs. 30' decort.	0	+2

I. Con eritrocitos de conejo tratados con pronasa.

II. Con eritrocitos de buey tratados con tripsina.

SUMMARY

Cooking of Beans (*Phaseolus vulgaris*)

Cooking at 85° for 2 h of beans previously soaked for 2 h in water, 0.1% acetic acid, or 0.1% sodium bicarbonate solution destroyed trypsin and chymotrypsin inhibitor activities, but did not result in optimal digestibility, or optimal growth in rats fed the corresponding diets, nor was the amylase inhibitor activity and the hemagglutinating activity completely destroyed by these treatments. A sample of white beans was more improved by the low-temperature cooking than the sample of red kidney beans. Heating in sodium bicarbonate solution was more effective than heating

in acetic acid solution. No correlation between nutritional value and enzyme inhibitor activity could be detected, but hemagglutinating activity was inversely related to growth promoting value.

It is concluded that enzyme inhibitor activity measurement is inadequate to study the efficiency of heat treatment in beans and that the hemagglutination test using trypsin-activated cow red blood cells is better suited. Beans with low hemagglutinating activity should be selected for use where, due to high altitude and corresponding low water boiling temperature or to other reasons complete heat destruction of thermolabile antinutritional factors is not assured.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la Lic. Raquel Moreno de Montesinos su ayuda en efectuar los cálculos estadísticos.

La O.E.A. aportó fondos a través del Proyecto de "Estudios y Mejoras del Valor Nutritivo de Leguminosas" para la ejecución del presente trabajo.

Parte de los experimentos se efectuaron en el Instituto Nacional de Nutrición.

BIBLIOGRAFIA

1. Jaffé W. G. and C. L. Vega. Heat-labile growth-inhibiting factors in beans (*Phaseolus vulgaris*) J. Nutr. 94, 203-210, 1968.
2. Kakade, M. L. & R. J. Evans. Nutritive value of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). Brit. J. Nutr. 19, 269-276, 1965.
3. Allison, J. B. Biological evaluation of proteins *Physiol. Rev.* 35, 664-700, 1955.
4. Jaffé, W. G. & O. Brücher. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemagglutinaciones de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). Arch. Latinoamer. Nutr. 22, 267-281, 1972.
5. Kakade, M. L., N. Simons & I. E. Liener. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soy bean samples. *Cereal Chem.* 46, 518-258, 1969.
6. Kakade, M. L., D. H. Swenson & I. E. Liener. Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin inhibitor activity using casein. *Anal. Biochem.* 33, 255-258, 1970.
7. Bernfeld, P. *Methods in Enzymology*, ed. S. P. Coldwick y N. O. Kaplan. Vol. 1, Academic Press, New York, 1955.
8. Hernández A. & W. G. Jaffé. Inhibidores de la amilasa pancreática en caraotas (*Phaseolus vulgaris*). *Acta Cient. Venezol.* 19, 183-185, 1968.
9. Flores, M. E. Tesis, Universidad Central de Venezuela 1972.
10. Korte, R. Heat resistance of phytohemagglutinins in weaning food mixtures containing beans (*Phaseolus vulgaris*) *Ecol. Food Nutr.* 1, 303-307, 1972.
11. Jaffé, W. G., O. Brücher y A. Palozzo. Detection of four types of specific phytohemagglutinins in different lines of beans (*Phaseolus vulgaris*) *Ztschr. Immunforsch.* 142, 439-449, 1972.

12. Kakade, M. L., D. E. Hoffa, I. E. Liener. Contribution of trypsin inhibitors to the deleterious effects of unheated soy beans fed to rats. *J. Nutr.* 103, 1777-1778, 1974.
13. Molina, M. R., G. de la Fuente y R. Bressani. Interrelaciones de tiempo de remojo, tiempo de cocción, valor nutritivo y otras características del frijol. (*Phaseolus vulgaris*). *Arch. Latinoamer. Nutr.* 24, 469-483, 1974.
14. González, I. D. y W. G. Jaffé, sin publicar.
15. Jaffé, W. G. y M. J. Gómez. Beans of high or low toxicity. *Qual Plant.* 24, en prensa.