

Caracterización químico nutricional del musgo *Sphagnum magellanicum*

Mario Villarroel, Edith Biolley, Enrique Yáñez, Rosario Peralta

Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue conocer la composición química de la especie briófito *Sphagnum magellanicum* (S.M.), que crece en la zona sur de Chile cubriendo un área geográfica aproximada de 500.000 hectáreas y de la cual se sabe muy poco. Dentro de sus cualidades destaca su poder de absorción y retención de agua, característica que se aprovecha para fines industriales y agrícolas. Pensando en diversificar su aprovechamiento para incorporarlo como fuente de fibra dietaria a productos alimenticios, es necesario previamente conocer su composición química. Muestras representativas del material fueron sometidas a diferentes análisis, tales como composición proximal, cuantificación de las diferentes fracciones de fibra y factores antinutricionales. Los resultados mostraron que este musgo destaca por su contenido en fibra total dietaria (77%), cifra muy superior a la encontrada en otras fuentes de fibra conocidas, tales como cáscara de arroz, avena, cebada, lupino. Es importante destacar la ausencia de factores antinutricionales en este musgo que estaría potenciando su posible uso en la alimentación humana.

Palabras clave: Musgo, *Sphagnum magellanicum*, fibra dietaria, factores antinutricionales.

SUMMARY. Chemical characterization of the moss *Sphagnum magellanicum*. The goal of the present study was to know the chemical characteristics of the moss *Sphagnum magellanicum* (S.M.) growing in the southern part of Chile, spreading approximately in a geographic area of 500.000 Has. Very few antecedents are reported in the literature concerning the functional properties of this resource, with the exception of the water absorption and holding capacity. Many of the industrial or agricultural uses of this moss are strongly related with this characteristic. Looking for other alternatives of utilization, it has been planned its incorporation to staple foods as a source of dietary fiber. But first it is necessary to know its chemical characteristics. Representative samples of this material were submitted to different chemical analysis such as proximal analysis, fractional fiber analysis and anti nutrient factors. Results of those analysis show the high amount of dietary fiber founded in this resource (77%), higher than reported data for other traditional fiber sources such as lupin bran, rice hull, barley hull, oat bran, etc. Finally it is important emphasize the absence of antinutrient factor in this moss, that could make feasible its use for human nutrition.

Key words: Moss, *Sphagnum magellanicum*, dietary fiber, anti nutrient factors.

INTRODUCCION

Entre los componentes de la dieta que han recibido especial atención en el último tiempo figura la fibra dietaria, basado este interés en evidencias científicas y epidemiológicas que han señalado una asociación positiva entre dietas ricas en fibra y bajas en colesterol, con mejores niveles de salud en la población (1-8). Entre sus características más interesantes destacan: regulación de la función intestinal, disminución de la absorción de glucosa, menor demanda de insulina, prevención del cáncer al colon, regulación del nivel de colesterol, reducción de ingesta calórica entre otras, que han sido acogidas por la industria alimentaria para formular y desarrollar productos enriquecidos en fibra con propiedades funcionales (9-20).

Dentro de los tópicos que han despertado gran interés en la investigación de la fibra dietaria destaca la búsqueda permanente de recursos naturales que posean cantidades

interesantes de este tipo de compuestos funcionales, para consumirlos como tales, o en mezcla con otros alimentos. Las investigaciones sobre fibra se han centrado principalmente en el aprovechamiento directo de la fibra proveniente de tubérculos, cereales, leguminosas, frutas, algas, como también de subproductos del procesamiento de estas materias primas, estas últimas caracterizadas por presentar un contenido de fibra dietaria cercana al 40%, una baja digestibilidad y reducido valor energético. Actualmente existe un gran interés en nuevas fuentes de fibra dietética en concentraciones comparables a las que se encuentran en subproductos de cereales y leguminosas tales como salvado de trigo, arroz, avena, lupino, etc. (21-33).

En este contexto nuestro interés se ha centrado en un recurso natural abundante en la región sur de Chile. Se trata de la especie briófito *Sphagnum magellanicum* perteneciente a la familia *sphangácea* (34-42) que se encuentra distribuida en forma silvestre en extensas áreas de las regiones novena y

décima del país, en formaciones edáficas o vegetaciones denominadas «ñadis» formando extensas franjas territoriales prácticamente continuas que abarcan una superficie aproximada de 500.000 Has (43). Referencias bibliográficas destacan la capacidad de absorción y retención de agua del *Sphagnum magellanicum* utilizándose de diversas maneras, pudiendo mencionar entre otras aplicaciones su uso en vendajes quirúrgicos, apósitos, empaçado de plantas así como también en forma de turba como combustible. Este musgo deshidratado se emplea como absorbente de aceites, combustibles derivados del petróleo y como descontaminante de metales pesados, pesticidas y otros productos. Tomando en cuenta la gran versatilidad de sus aplicaciones, este trabajo tiene como objetivo analizar la posibilidad que esta especie pueda emplearse en la formulación de productos alimenticios para consumo humano, como una fuente alternativa de fibra dietaria, para lo cual, en esta primera fase de la investigación, es necesario conocer su composición química.

METODOLOGIA

Materia prima

Muestras de musgo variedad *Sphagnum magellanicum* (S.M.) fueron donadas para este estudio por gentileza de la empresa "Los Volcanes" de la ciudad de Puerto Varas. X Región, Chile (43).

En el laboratorio de procesos del Instituto de Agroindustrias de la Universidad de la Frontera, el producto se sometió a las siguientes operaciones: selección, eliminación de impurezas; secado a una temperatura de 60°C hasta alcanzar una humedad final de 18%. Luego las muestras se almacenaron en bolsas de polietileno a temperatura ambiente (aproximadamente 15°C) hasta el momento de los análisis.

Análisis proximal

Muestras del musgo se caracterizaron químicamente determinado su contenido de humedad, proteínas, cenizas, lípidos, hidratos de carbono y fibra cruda de acuerdo a procedimientos estándares de la AOAC (44). Todas las determinaciones se realizaron en triplicado.

Determinación de fibra dietaria

La fibra dietética total y fraccionada en soluble e insoluble se cuantificó por el método gravimétrico enzimático (45) aprobado por la AOAC (44), utilizando para la hidrólisis enzimática alfa amilasa termo estable, proteasa y amiloglucosidasa.

Fibra neutro detergente (FND)

Se aplicó el método de Van Soest et al., (46).

Fibra ácido detergente (FAD)

Se determinó aplicando técnicas estándares de la AOAC N° 973-18 (44).

Celulosa

Se cuantificó a partir de la fibra ácido detergente. Se calculó por diferencia de peso entre el residuo seco del tratamiento ácido detergente y el residuo seco permanente, luego del tratamiento con ácido sulfúrico 72%. AOAC (44).

Lignina

Según el método de la AOAC. N° 973-18. (44).

Hemicelulosa

Según el método de Jones and Tanaka, (47).

Azúcares totales y reductores

Los azúcares se extrajeron utilizando etanol al 80% en un aparato soxleth durante tres horas. El extracto libre de alcohol se recolectó cuantitativamente en agua destilada, añadiendo 1 mL de hidróxido de aluminio como agente desproteinizante. Los azúcares reductores se determinaron por el método de Munson and Walker. Para determinar los azúcares totales, una alícuota de la muestra se trató con solución de ácido clorhídrico conc. Finalizada la hidrólisis ácida, se determinaron los azúcares totales con la misma técnica (48).

Minerales

Las muestras se sometieron a una digestión húmeda en medio ácido, utilizando una mezcla de ácido clorhídrico concentrado y ácido perclórico al 70% para la oxidación total de la materia orgánica. calcio, magnesio, sodio, potasio, cobre, hierro, cobalto, manganeso, zinc se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica. El selenio fue determinado por fluorometría usando 2,3 diamino naftaleno (49). El contenido de fosfatos se analizó espectrofotométricamente según procedimientos de la AOAC (44).

Factores antinutricionales

Inhibidor de tripsina

Se determinó por la técnica de Kakade et al.(50).

Hemaglutininas

Según el procedimiento de Jaffé et al.(51).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se extrajeron de las muestras con alcohol al 80% en un aparato soxleth (tiempo extracción 3 h.). Posteriormente se cuantificaron espectrofotométricamente a 460 nm utilizando el reactivo 4 amino antipyrina en presencia de ferricianuro de potasio (52).

Fitatos

Se aplicó el método de Haug and Lantzsch (53).

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización química

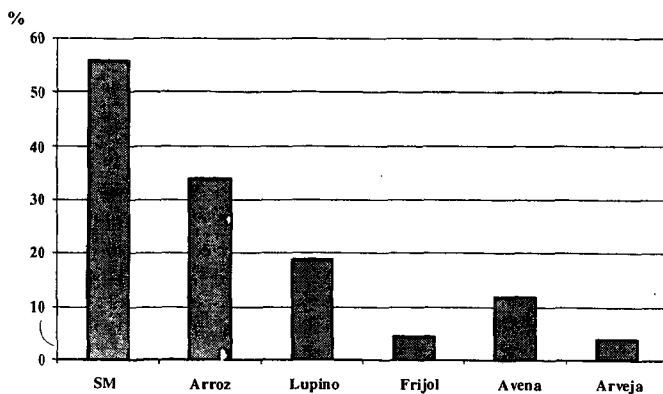
Del análisis químico proximal realizado a las muestras de *Sphagnum magellanicum* (S.M.) sobresale su contenido promedio de fibra cruda (56%) mientras que el resto de los componentes tales como extracto etéreo (0.77%), proteínas 2.30% y cenizas (3.02%) están presentes en niveles muy bajos (Tabla1). Analizando solamente el resultado de fibra cruda con otras fuentes reconocidas por un alto aporte en este componente, se encontró que este valor es muy superior a los encontrados en cáscara de arroz con 35% (24), lupino (18%) y avena (13%) (54), frijol blanco (4%) y arvejas cocidas con cáscara (3%) (32) tal como se aprecia en la Figura 1.

TABLA 1
Caracterización química del musgo *Sphagnum magellanicum*

	g/100g
Humedad	17.00*
Extracto etéreo	0.77
Proteínas**	2.30
Cenizas	3.02
Fibra cruda	56.00
Hidrato de carbono***	20.91

* Valor promedio, n=3; **N*6.25; ***Por diferencia

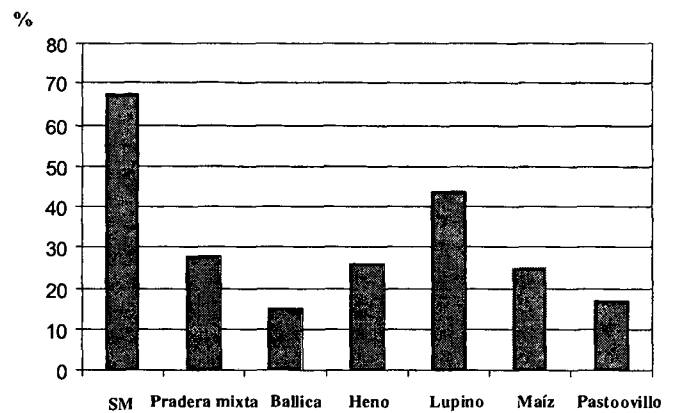
FIGURA 1
Contenido de fibra cruda del S.M y diversas fuentes de fibra



La Figura 2 muestra el estudio comparativo entre el contenido de fibra cruda del S.M (68% en base seca) y diferentes tipos de recursos destinados a la alimentación

animal. De este estudio se desprende que la fibra del ensilaje de lupino es la mas cercana con un 45%, en tanto que los ensilajes de pradera mixta, heno de gramíneas y maíz llegan aproximadamente a un límite entre 25% y 30%, situándose mas abajo pradera de ballica y pasto ovillo con porcentajes alrededor del 15% al 30% (55).

FIGURA 2
Contenido fibra cruda de S.M. y especies forrajeras (base seca)



El análisis de fibra dietaria total de las muestras de S.M mostraron un resultado cercano al 77%, del cual un 75.8% corresponde a fibra insoluble y 1.2% corresponde a fibra soluble. Si se realiza ahora un análisis comparativo con otros alimentos nos encontramos con resultados en los cuales el S.M contiene una mayor cantidad de fibra dietaria total, tales como lupino (32%), lenteja cocida y frijol rojo cocido con porcentajes fluctuando entre 17% y 22% (32), arroz entero y avena con valores de fibra dietaria alrededor del 20% (26) y choclo cocido (elote) (4%) (28) (Figura 3).

Debido a que la técnica standard aplicada subvalora en forma importante el contenido de fibra insoluble, se llevaron a cabo los análisis de fibra neutro detergente (FND) y ácido detergente (FAD), incluyendo además los componentes lignina, y celulosa, para determinar de una manera mas confiable los componentes insolubles existentes en el S.M. Los resultados se muestran en la Tabla 2. A la luz de estos datos se demuestra que el análisis de FND arroja valores bastante más cercanos (75.8%) a los obtenidos con la metodología aplicada para determinar fibra dietaria. El contenido determinado para FAD es de 58% y los correspondientes a hemicelulosa, lignina y celulosa fueron 18%, 27% y 30% respectivamente.

FIGURA 3
Contenido de fibra dietaria total en S.M.
y varias especies vegetales

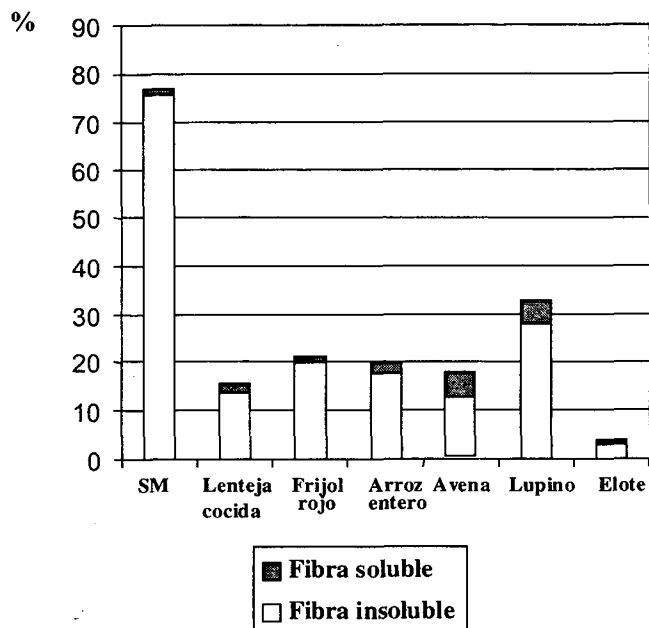


FIGURA 4
Contenido de fibra neutro detergente en S.M.
y leguminosas (base seca)

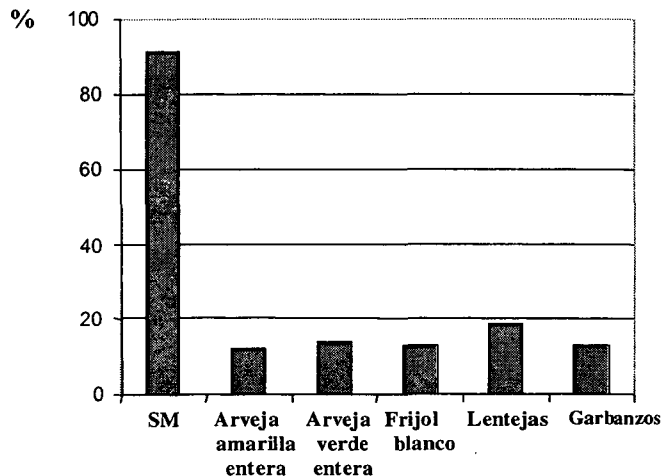


FIGURA 5
Contenido de fibra neutro detergente en S.M.
y recursos vegetales ricos en fibra (base seca)

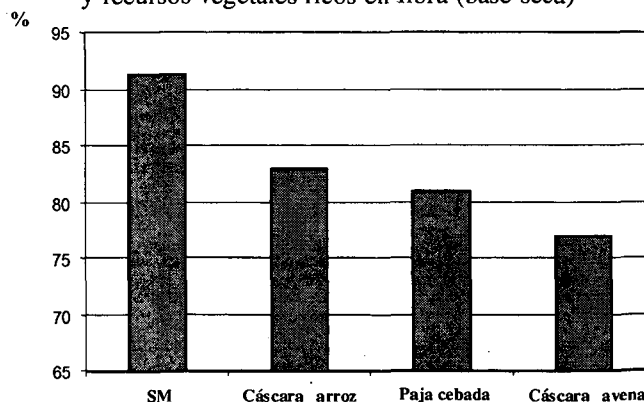


TABLA 2
Fracciones de fibras presentes en el *Sphagnum magellanicum*

	g/100g
Fibra neutro detergente	75.77
Fibra ácido detergente	57.58
Hemicelulosa	18.10
Lignina	27.42
Celulosa	30.14

* Valor promedio, n=3

Posteriormente se realizó un análisis comparativo del contenido de fibra neutro detergente (expresada en base seca) del musgo con leguminosas y cereales. Los resultados se presentan en las Figuras 4 y 5. Analizando estas figuras, el valor promedio encontrado de este componente en el S.M. es mayor (90%) a las cifras encontradas para especies de leguminosas tales como arvejas amarillas y verdes con y sin cáscara, frijol blanco, lentejas y garbanzo, en los cuales este valor fluctúa entre 15% y 20% (32). La comparación con cáscaras de cereales tales como arroz, paja de cebada y avena mostró que para los dos primeros el promedio de fibra neutro detergente fluctuó alrededor del 80% y para avena una cantidad ligeramente superior al 75% (32, 21).

En cuanto a la cantidad de fibra ácido detergente (base seca), cuyo dato se muestra en la Figura 6, la cifra encontrada para el S.M. de un 70% aproximadamente es mayor, a la obtenida para ensilajes comerciales, tales como trébol, alfalfa y ballica con valores promedios alrededor de un 35% y maíz cercano al 25% (56).

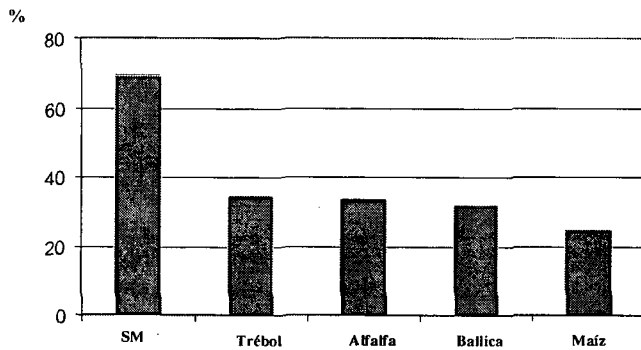
La concentración de lignina obtenida para el S.M. de 33% es significativamente mayor comparada con 5% para cáscara de arroz (22), 3% en frijoles (22) y 2% en pan integral (57). Con respecto al contenido de celulosa el S.M. presenta un valor cercano al 36%; cáscara de arroz es ligeramente superior alcanzando un 38%. Ambos valores contrastan con los observados en frijol (4%) y pan integral (3%).

Con relación al contenido de azúcares tanto totales como reductores las cantidades obtenidas de 0.354 y 0.078 g/100

g son mínimas comparadas con otras fuentes de fibra, tales como maracuyá (5.0 y 6.2 g/100g) (58) y residuo industrial de tomate (1.0 y 8.3 g/100g) (8).

FIGURA 6

Concentración de fibra ácido detergente (base seca) en especies forrajeras comparadas con S.M.



En cuanto a su aporte en nutrimentos inorgánicos, entre los datos que se muestran en la Tabla 3, destacan en especial los valores de sodio, calcio, magnesio, potasio, fosfatos y hierro que son superiores a los encontrados en la literatura en otras especies vegetales. (59). Con relación a los metales pesados tóxicos como plomo y cadmio las concentraciones detectadas están muy por debajo de las cantidades máximas permitidas para estos elementos (60).

TABLA 3

Composición mineral del *Sphagnum magellanicum*

	ppm
Magnesio	1223.1
Calcio	2687.9
Sodio	700.5
Potasio	1356.6
Zinc	21.9
Cadmio	<0.005
Plomo	0.15
Fósforo	294.4
Hierro	350.8
Cobre	9.2
Manganeso	170.4
Silice	3371.2
Selenio	<0.1

Valor promedio, n=3

Por otra parte, la presencia de factores antinutricionales (inhibidores de tripsina, lectinas, saponinas, compuestos fenólicos entre otros) su análisis ha adquirido especial interés

en los últimos años en virtud de su acción tóxica ya que limitan por ejemplo el aprovechamiento de nutrientes tales como proteínas y biominerales, los que pueden producir lesiones gastro intestinales, hemólisis o aglutinación de eritrocitos, inhibición del crecimiento en animales (61-65). Dado estos antecedentes, se consideró necesario determinar en esta etapa de la investigación, la presencia de estos compuestos en el *Sphagnum magellanicum* considerando la posibilidad de utilizar esta briófitas como fuente de fibra en alimentos de consumo humano. Los resultados analíticos llevados a cabo demostraron la ausencia de estos componentes en esta especie haciendo factible su utilización como fuente alternativa de fibra.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en las experiencias llevadas a cabo sobre la caracterización bromatológica de esta variedad de *Sphagnum*, demuestra que esta briófitas es una alternativa interesante como fuente alternativa de fibra dietaria total por los valores detectados en este estudio, siendo su porcentaje muy superior a los encontrados en otros recursos vegetales. Por otro lado, la gran disponibilidad de este recurso es un factor atractivo desde el punto de vista industrial y finalmente, el hecho que es factible su incorporación potencial en alimentos de consumo humano por la ausencia de factores antinutricionales.

Trabajo financiado por la Dirección de Investigación de la Universidad de la Frontera. N° 2005/2000.

REFERENCIAS

1. Trowell H. Hipertensión, obesity, diabetes mellitus and coronary heart diseases. En: Trowell, H.C.; Burkitt, D.P., Eds. Western diseases: Their emergencies and prevention. London: Edward Arnold, 1981;pp. 3-32.
2. Atalah E. Nutrición y Cáncer. Nutrición y Salud. Universidad de Chile. Fac. de Medicina. Dpto. Nutrición. Santiago, Chile. 1996.
3. Periago MJ, Ros G, López G, Martínez MC and Rincón F. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos. Rev. Española de. Ciencia y. Tecnología de Alimentos. 1993;33: 229-246.
4. Scheneeman BO. Soluble vs. insoluble fiber. Different physiological responses. Food Technol: 1987;81-82.
5. Cunnings JH and Englyst HN. Fermentation in human large intestine and the available substrates. Am J Clin Nutr. 1987;45:1243-1255.
6. Sozulsky FW and Cadden AM. Composition and physiological properties of several sources of dietary fiber. J Food Sci. 1982;1472-1477.
7. Pack N, Araya H. Efecto hipocolesterolémico del salvado de avena. Revista Chilena de Nutrición. 1991;19(1):7-16.
8. Alvarado M, Pacheco E, Schnell M, Hevia P. Fibra dietética en el residuo industrial del tomate y su efecto sobre la respuesta glicémica y colesterol sérico en ratas. Arch Latinoamer Nutr.

- 1999;49 (2):138-142
9. Van den Broeck A. Functional Foods: The Japanese approach. *Food Ingredients*. 1993;1: 4-9.
 10. Kawazoe K. Functional foods and ingredients in Japan. *Food Ingredients*. 1994;5:43-45
 11. Rowan C. Functional phenomenum. *Food Ingredients*. 1999;1:27-28
 12. Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut.*, 1991;32: 439-442.
 13. Proop S. Una comparación entre los mercados de alimentos funcionales en la Unión Europea, Estados Unidos y Japón. Report of Institute for Prospective Technological Studies (IPTS Report). European Commission. 1998.
 14. Pascal G. Functional Foods- The future: How to regulate this foods. *Nut Rep*. 1996;54 (11):199-201
 15. Hasler M. Functional Foods: The Western perspectives. *Nut Rep*. 1996;54(11): S6-S10.
 16. Glinsmann WH. Functional Foods in North America. *Nut Rep*. 1996;54(11): S 33-S37.
 17. Pascal G, Collet-Ribbin C. Las perspectivas europeas sobre alimentos funcionales. Report of Institute for prospective technological studies (IPTS Report). European Commission. 1998.
 18. Quezada H. Alimentos funcionales. *Industria de Alimentos*. 1998;pp 17-18
 19. Hesser JM. Application and usage of dietary fibers in the USA. *Food Ingredients*. 1994;2:50-52
 20. Hoogenkamp HW. Lifestyle and Food: Mega changes for mega markets. *Food Ingredients* N° 3. 1994;pp 23-29.
 21. González J, Alvira P, González G. La cascarilla de arroz en la alimentación animal. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. 1986;26 (4):513-528
 22. González P, Alvira P y González G. La cascarilla de arroz en la alimentación animal II. Composición químico-bromatológica. *Rev Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 1987;27(1):139-149.
 23. Larrauri JA, Rodríguez JL, Fernández M y Borroto B. Nota: fibra dietética obtenida a partir de hollejos cítricos y cáscaras de piña. *Rev. Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 1994;34(1):102-107.
 24. Periago MJ, Ros G, Englyst HN y Rincón F. Nota: variación en el contenido de fibra dietética del guisante (*Pisum sativum*) en función de la variedad, tamaño y método analítico. *Rev Española de Ciencias y Tecnología de Alimentos*. 1994;34(5):565- 575.
 25. Bressani R, Breuner M y Ortiz M. Contenido de fibra ácido y neutro-detergentes y de minerales menores en maíz y su tortilla. *Arch Latinoamer Nutr* 1989;39(3): 382-391.
 26. Pak N, Ayala C, Vera G, Pennacchiotti I, Araya H. Fibra dietética soluble e insoluble en cereales y leguminosas cultivadas en Chile. *Arch Latinoamer Nutr*. 1990;40(1):116-125.
 27. Pak N. Fibra dietética. Concepto, contenido en alimentos y consumo en Chile. *Rev. Chilena de Nutrición* 1992;20(2):124-135
 28. Pak N. Fibra dietética en verduras cultivadas en Chile. *Arch Latinoamer Nutr*. 2000;50(1): 97-101
 29. Barber S, Benedito de Barber C y Llácer D. Contenido de fibra dietética, atributos sensoriales de calidad y composición química del pan integral del comercio. *Rev Agroquim Tecnol Aliment*. 1983;23(1):119-131.
 30. Pérez-Gil F, Saginés L, Torreblanca R, Grande M y Carranco M. Estudio sobre la composición química y contenido de factores antifisiológicos de la pasta residual de jojoba. *Arch Latinoamer Nutr*. 1989;39(4): 590-600.
 31. Closa S, Martín C., Chau O., Sambu cetti E y Zuleta A. 1994. Contenido de nutrientes en materias primas y productos procesados derivados de cereales y leguminosas I: Composición centesimal y valor energético. *Arch Latinoamer Nutr* 1994;44(3):168-171.
 32. Herrera IM, González EP, Rometpo JG. Fibra dietética soluble, insoluble y total en leguminosas crudas y cocidas. *Arch Latinoamer Nutr*. 1998;48 (2):179-192.
 33. Rodríguez J. Fibra dietética. Propiedades funcionales y procesos tecnológicos. II Curso Internacional de fibra dietaria y almidón resistente 21, 103-107. Santa Fe de Bogotá, 1987.
 34. Matteri CM. La diversidad biológica (o sobre como y por qué proteger los musgos. *Revista Ciencia Hoy*. 1998;46 (8):14-19
 35. Latymer Upper School. Ecological habitat of the british islands. *Geographic Department*. 1999. www.latymer-upper.org/geog/sixth/wetlands1.html
 36. Subiabre A and Rojas C. Geografía física de la región de Los Lagos. Ediciones Universidad Austral de Chile., Valdivia, Chile. 1994.
 37. Cronquist A. Introducción a la botánica. Compañía Edit. Continental. Ceca. 1992;pp. 848.
 38. Carrillo R, Godoy R, Pered, H. Simbiosis micorrítica en comunidades boscosas del valle central en el sur de Chile. *Bosque*. 1992;13(2):57-67
 39. Ramírez J, San Martín C, Ferrada V, Ramírez C. La flora de los ñadis del sur de Chile. 2° Congreso Internacional Gestiones en Recursos Naturales. 1991;pp. 607.
 40. Raven P, Evert R, Eichhorn S. *Biología de las plantas*. Edit. Reverté, S.A. Barcelona.1992;pp 773.
 41. Van Breemen N. How *Sphagnum* bogs down others plantes. *Trece*. 1995;10:270-275
 42. Ramírez GC. El musgo *Sphagnum magellanicum* en Chile y su comparación con una muestra neozelandesa. Informe técnico. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 1990.
 43. Comunicación personal. Empresa Los Volcanes. Puerto Varas, Décima Región, Chile. 2001.
 44. AOAC. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemist. 16th ed.. Washington D.C. 1990.
 45. Prosky L, Asp NG, De Vries J, Schweitzer TF, Furda L. Determination of soluble, insoluble and total dietary fiber in food and food products. Interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem*. 1988;71: 1017-1023.
 46. Van Soest PK, Mertens DR. The use of neutral detergent fiber versus acid detergent fiber in balancing dairy rations. Technical symposium, Publ. Nutr. Chem. Div. Monsanto Co. USA. 1984.
 47. Jones JK, Tanaka Y. Galactan. Isolation from lupin seed. *Methods in Carbohydrate Chemistry*. N. York. Marcel Dekker Inc, 1964.

48. Schmidt HH. Avances en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Edit. Salesiana, Santiago, Chile, 1981.
49. Analytical Methods Commitee Royal Chemical Society. Determinación of small amounts of selenium in organic matters. *Analyst*. 1979;104 pp. 778-787.
50. Kakade M, Rackis C, Mac. Ghee J, Puski G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. *Cereal Chemistry* 1974;51: 376-382.
51. Jaffé W, Ieney A, González D. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. *Phytochem*. 1974;13: 2685-2693.
52. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 1951. 15 ed.
53. Haug W. And Lantzsch H. Sensitive method for the rapid determination of phytates in cereal and cereal products. *J Sci Food Agric*. 1983;34:1423-1426.
54. Schmidt HH, Pennachioti Irma, Masson L, Mella ma A. Tabla de composición química de alimentos chilenos.. Facultas de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Octava Edición. Santiago, Chile. 1985.
55. Hiriart ML, Fuchslocher RP. Comparación de métodos de determinación de fibra cruda en forrajes. *Agro Sur* 1979;7(1):1-2.
56. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). II Seminario de utilización de ensilajes de pradera para agricultores de la zona Sur de Chile. Estación Experimental Renhue. Osorno. Chile. 1994.
57. Marques MM, Nova D, Rezende RM, Da Silva M. Estudio comparativo de métodos analíticos de determinación de la fracción fibra dietaria insoluble en alimentos ricos en almidón.. *Arch Latinoamer Nutr*. 1990;40 (1):107-115.
58. Rozycki VR, Baigorra CM, Freyre MR, Bernard CM, Zannier MS. Composición de nutrientes en especies vegetales autóctonas de la región taqueña, Argentina. *Arch Latinoamer Nutr*. 1997;47 (2):141-145
59. Jury G, Urteaga C, Taibo M. Composición química de los alimentos según la pirámide alimentaria chilena. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Chile. 1997.
60. Reglamento Sanitario de los Alimentos. N° 977. Ministerio de Salud. Diario Oficial de la República de Chile. Mayo. 1997.
61. Jiménez Lizbeth, Eliminación de componentes tóxicos de dos semillas del género *Erythrina* y su evaluación bromatológica. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Autónoma de México. México. 1994.
62. Gil Leticia. Valor nutritivo de algunas flores comestibles. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. UNAM México. 1992.
63. Nava María, Rodríguez María del Rosario. Composición química y contenido de compuestos tóxicos termolábiles en dos variedades de frijol en diferentes fases de su desarrollo. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico, UNAM, México. 1988.
64. Price KR, Fenwick GR. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs. *Critical review in Food Science and Nutrition*. Vol 26 (1):27-115.
65. Sousa HR. Estudio comparativo de la composición química de frijoles (*Phaseolus vulgaris*) silvestres y cultivados. Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico. 1993. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Recibido: 17-12-2001

Aceptado: 08-08-2002