

Influencia del tratamiento térmico y la fibra dietética en la calidad de la proteína de la alcachofa y su subproducto

G. López, G. Ros, J. Ortuño, M.J. Periago, C. Martínez, F. Rincón

Universidad de Murcia, Universidad de Córdoba, España

RESUMEN. El contenido en aminoácidos, la digestibilidad "in vitro" de la proteína (DIVP) y la fibra dietética (FD) fueron determinados en muestras de alcachofas escaldadas (95°C/5 minutos), esterilizadas (100°C/5 minutos) y su subproducto (formado por las hojas externas de la alcachofa y la porción distal del tallo). Con el fin de determinar la adecuación de la proteína de la alcachofa a las recomendaciones en aminoácidos esenciales descritas por la FAO/WHO, fueron determinados los marcadores índice y el aminoácido limitante en las tres muestras analizadas. De los resultados obtenidos se desprende que las tres muestras presentaron una buena relación con las recomendaciones de la FAO/WHO, incluyéndose las relativas a los aminoácidos azufrados. El contenido en FD en todas las muestras fue alto, apreciándose un descenso en las muestras de alcachofa esterilizada, lo que puede estar relacionado con una mejora de DIVP. A pesar de que el contenido en FD en el subproducto fue alto (51,6%), éste puede considerarse como una fuente potencial de proteína, ya que presentó un adecuado perfil de aminoácidos y los mayores valores de DIVP (76,4%).

Palabras clave: Alcachofa, calidad proteica, aminoácidos, fibra dietética.

SUMMARY. Protein quality of artichoke and artichoke by-product as affected by heat treatment and dietary fiber. Blanched (95°C, 5 min), autoclaved (100°C, 5 min) artichoke hearts and their by-product (external leaves and distal portion of stem) were analysed for amino acid composition, «in-vitro» protein digestibility (DIVP), and dietary fiber. Amino acid score of the three samples was in a good agreement with FAO/WHO recommendations including sulphur amino acids. Dietary fiber content was high in all samples, decreasing in autoclaved artichokes that might be relate with the improvement of DIVP. By-product was consider a potential food source because it showed a good amino acid profile and the highest levels of DIVP (76.4%), but fibrouness was also too high (51.6%).

Key words: Artichoke, quality protein, aminoacids, dietary fiber.

INTRODUCCION

En general, las proteínas de origen animal son más adecuadas para cubrir las necesidades del hombre en aminoácidos esenciales que las proteínas de origen vegetal. En este sentido, los cereales y las legumbres, las dos fuentes más importantes de proteínas vegetales, tienen limitado su valor nutritivo ya que son deficientes en ciertos aminoácidos esenciales tales como la isoleucina, leucina, treonina, triptófano y metionina (1). Diferentes estudios han demostrado que la administración de diferentes dietas formuladas a base de proteínas vegetales tienen efectos nutricionales complementarios, mejorando la calidad proteica de cada una de ellas por separado (2,3). Por lo tanto, es necesario estudiar la calidad proteica de fuentes vegetales distintas a los cereales y las legumbres, para obtener información nutricional sobre alimentos que puedan ser útiles para suplir las deficiencias en aminoácidos esenciales de aquellos. Muchos de estos alimentos de origen vegetal se consumen tradicionalmente, aunque existe una carencia de información sobre su valor nutritivo. La medida del valor nutricional de las proteínas basada en la composición en

aminoácidos y su digestibilidad es un método efectivo para obtener información con fines nutricionales y de etiquetado del producto.

La alcachofa es una planta de la familia *Compositae* ampliamente localizada en los países del área mediterránea, principalmente Italia, Francia y España. Tradicionalmente su consumo ha tenido una gran difusión por sus efectos fisiológicos relacionados con la estimulación de la diuresis y el metabolismo del nitrógeno. Junto con las legumbres, la alcachofa es una de las fuentes más importantes de la dieta mediterránea, caracterizada por su alto valor nutritivo (4,5). Sin embargo, el consumo de legumbres presenta diversos inconvenientes debidos a los problemas asociados a la flatulencia, a su baja digestibilidad proteica afectada por diferentes factores antinutritivos, o por la conformación de sus proteínas, que resisten la actividad enzimática y reducen su calidad proteica (6,7). Algunos de estos inconvenientes pueden ser evitados mediante un adecuado tratamiento térmico (cocinado culinario o procesado industrial), debido a la disminución de la actividad de sus factores inhibidores (8-10). La alcachofa se caracteriza por su elevado valor nutritivo,

digestibilidad (11-13) y contenido en fibra dietética (13-16). Sin embargo, se han asociado algunos efectos adversos al consumo de dietas ricas en fibra, tales como la baja biodisponibilidad de algunos minerales (17) o la reducción de la digestibilidad de la proteína debido a la barrera física que ejerce la estructura de la pared celular al ataque enzimático (18, 19). Tradicionalmente, el subproducto de la alcachofa se ha utilizado en la alimentación animal, aunque pocos estudios se han realizado sobre su posible utilización como un suplemento para la industria alimentaria.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el valor nutricional de la proteína de la alcachofa, evaluado por su composición en aminoácidos y la digestibilidad "in vitro" de la proteína, comparándola con el subproducto industrial de la alcachofa, y estudiar los efectos del tratamiento térmico comercial (escaldado y esterilizado) y contenido en fibra dietética en el valor nutritivo de sus proteínas.

MATERIAL Y METODOS

Material

Las alcachofas (*Cynara scolymus*, L., var. *Blanca de Tudela*) fueron proporcionadas por Hero España, S.A. (Murcia, España), cultivadas en "El campo de Cartagena" (Sudeste de España), transportadas a la fábrica conservera dentro de la primera hora tras la cosecha, refrigeradas a 4°C, inspeccionadas, calibradas, y lavadas con agua para eliminar la suciedad. Las alcachofas fueron escaldadas a 95°C durante 5 minutos, para posteriormente eliminar mecánicamente las hojas externas y la porción final del tallo. En esta etapa se forman los corazones de las alcachofas y el subproducto industrial de la misma, constituido éste último por las hojas externas y la porción final del tallo. Los corazones de alcachofa escaldados fueron introducidos en botes de vidrio, complementándose el contenido de los mismos con una solución ácida de ClNa y ácido cítrico (pH 4,5). La esterilización comercial se llevó a cabo en un autoclave a 100°C durante 5 minutos. Finalmente, los botes de alcachofa fueron enfriados con agua antes de ser almacenados.

Para la realización de este estudio se tomaron muestras de los corazones de alcachofa en los estados de procesado escaldado y esterilizado, así como del subproducto industrial del procesado de la alcachofa.

Las muestras de alcachofas escaldadas y esterilizadas (corazones de alcachofa con un calibre de 40-45 mm de diámetro) y del subproducto fueron desecadas utilizando un liofilizador Virtis Freeze-Drier, modelo Bench Top 3 (Virtis Co, Gardiner, NY) y molidas en un molino Cyclotec 1093 (Tecator AB, Högånäs, Suecia) para obtener un polvo con un tamaño de partícula que pasara a través de una malla de 40 mesh. Finalmente, las muestras se guardaron en botellas de polietileno en congelación a -40°C hasta su análisis.

Métodos

Proteína bruta

El contenido en proteína bruta (PB) se estimó utilizando el método micro-Kjeldahl de determinación de nitrógeno, usando como factor de conversión 6.25 (20).

Contenido en aminoácidos

El contenido en aminoácidos fue determinado mediante un Analizador LKB Alfa Plus (Pharmacia LKB Biochrom S.A., Cambridge, Inglaterra). Las muestras liofilizadas fueron hidrolizadas usando HCl 6 N a 110°C durante 24 horas en ampollas ámbar selladas al vacío. Después de la hidrólisis, las muestras fueron filtradas a través de filtros Millipore de 0,22 µm de tamaño de poro, diluyéndose posteriormente hasta 2 ml y ajustándose el pH a 2,2 mediante una solución tamponadora de citrato de litio (Pharmacia Biotech, Biochrom, S.A., Cambridge, Inglaterra) antes de ser cromatografiadas en la columna de intercambio iónico. Una solución estándar de aminoácidos fue usada como referencia para calibrar el analizador de aminoácidos (Pharmacia LKB Biochrom S.A., Cambridge, Inglaterra, Part. N° 40 00 9037).

Digestibilidad "in vitro" de la proteína

La digestibilidad "in vitro" de la proteína (DIVP) fue determinada según el procedimiento descrito por Satherlee y col. (21) utilizando un patrón de caseína de referencia, usando la siguiente ecuación de regresión: $Y=234,84-22,56X$

donde Y es la digestibilidad "in vitro" (%), y X el pH de la suspensión de la muestra después de 20 minutos de digestión con tripsina pancreática porcina (type IX), quimotripsina pancreática bovina (type II), peptidasa intestinal porcina (Grade I), y proteasa bacteriana («Pronasa E») (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO).

Fibra dietética

La fibra dietética total (FDT) fue determinada por el método enzimático-gravimétrico de Prosky y col. (22). El residuo de fibra, antes de ser pesado, fue utilizado para estimar la cantidad de proteína unida a la fibra dietética usando el cálculo anteriormente mencionado para la determinación de proteína bruta.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado, evaluándose estadísticamente los resultados mediante el software SYSTAT, versión 5.0 (23). El test de Tukey con un nivel de significación del 5% fue usado para comparar pares individuales de medias.

RESULTADOS Y DISCUSION

Diferentes autores han indicado que las alcachofas no procesadas son una buena fuente de algunos aminoácidos,

tales como el ácido aspártico, glutamina, leucina, arginina o amoníaco (11,24). Sin embargo, existe poca información a cerca de como el procesado afecta a la calidad de la proteína de las alcachofas. La Tabla 1 muestra el contenido en aminoácidos esenciales y no esenciales en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados, así como en el subproducto industrial de la alcachofa. Entre los aminoácidos esenciales, la leucina fue el más abundante, oscilando sus valores entre 8,67 y 8,05 g/16 g N para alcachofas esterilizadas y escaldadas

respectivamente. Los valores de valina, treonina, lisina, isoleucina y fenilalanina oscilaron desde 3,5 hasta 6,0 g/16 g N, y fue detectada una cantidad apreciable de aminoácidos azufrados (metionina+cistina), más de 2,5 g/16 g N, si se compara con otros vegetales como el frijol o el guisante (25-27). El aspartato y la glutamina fueron los aminoácidos no esenciales de mayor contenido, mientras que la taurina y GABA (ácido γ -amino butírico) los hallados en menor cantidad (menos de 2 g/16 g N).

TABLA 1

Composición en aminoácidos esenciales y no esenciales de las alcachofas escaldadas y esterilizadas, y su subproducto industrial (g/16 g N)

	Aminoácidos esenciales			Aminoácidos no esenciales			
	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto	
Cistina	0,81 ^a (0,241)	0,66 ^{ab} (0,022)	0,63 ^b (0,291)	Alanina	5,55 ^a (0,241)	5,61 ^a (0,022)	5,32 ^a (0,291)
Histidina	1,05 ^a (0,136)	1,29 ^a (0,012)	1,45 ^a (0,068)	Arginina	3,15 ^a (0,136)	2,56 ^b (0,012)	2,29 ^b (0,068)
Isoleucina	5,50 ^a (0,456)	4,67 ^b (0,064)	5,04 ^{ab} (0,782)	Aspartato	12,19 ^a (0,456)	8,30 ^c (0,064)	16,52 ^a (0,782)
Leucina	8,05 ^a (0,064)	8,67 ^a (0,010)	8,18 ^a (0,040)	GABA ^d	0,94 ^a (0,064)	0,46 ^b (0,010)	0,44 ^b (0,040)
Lisina	5,90 ^a (0,175)	5,50 ^a (0,021)	4,66 ^b (0,367)	Glicina	4,42 ^a (0,175)	4,65 ^a (0,021)	4,35 ^a (0,367)
Metionina	1,87 ^a (0,601)	2,05 ^a (0,051)	1,88 ^a (0,788)	Glutamina	13,56 ^a (0,601)	13,21 ^a (0,051)	13,33 ^a (0,788)
Fenilalanina	3,60 ^b (0,076)	3,82 ^{ab} (0,084)	4,37 ^a (0,247)	Prolina	6,34 ^a (0,076)	5,47 ^b (0,084)	4,73 ^c (0,247)
Tirosina	2,16 ^a (0,123)	1,66 ^b (0,030)	2,19 ^a (0,170)	Serina	5,17 ^a (0,123)	4,85 ^{ab} (0,030)	4,37 ^b (0,170)
Treonina	4,94 ^a (0,051)	4,67 ^b (0,015)	4,20 ^c (0,254)	Taurina	0,98 ^b (0,051)	1,31 ^{ab} (0,015)	1,82 ^a (0,254)
Valina	5,39 ^{ab} (0,096)	6,00 ^a (0,084)	4,66 ^b (0,320)	Amoniaco	6,78 ^b (0,096)	4,90 ^c (0,084)	9,64 ^a (0,320)

^{a-c}Medias (\pm error estándar) de tres determinaciones expresadas como g/16 g N de peso seco. Diferentes letras dentro de la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). ^dGABA: ácido γ -amino butírico.

El procesado disminuye la cantidad de aminoácidos en los alimentos, siendo la lisina, metionina y cistina los más sensibles a tal efecto (28). Sin embargo, como muestra la Tabla 1, en la alcachofa ninguno de estos aminoácidos presentó diferencias estadísticamente significativas entre los estados de procesado escaldado y esterilizado, aunque el proceso de esterilización disminuyó ligeramente los niveles de treonina, tirosina, isoleucina (aminoácidos esenciales), arginina, aspartato, GABA y prolina (aminoácidos no esenciales). En otros vegetales fibrosos como el espárrago verde, se ha observado una disminución de cistina y lisina, y también una reducción en los niveles de arginina y GABA durante el proceso de esterilización (29), mientras que en frijoles se han descrito pérdidas de treonina y arginina durante el hervido (30).

En el subproducto de la alcachofa el aspartato fue determinado en gran cantidad (16,52 g/16 g N frente a 12,19 y 8,30 g/16 g N en las muestras escaldada y esterilizada, respectivamente), probablemente debido al hecho de que en el subproducto de la alcachofa se incluye la porción final del tallo, donde el aspartato se encuentra en mayor cantidad, ya

que es el principal aminoácido transportado a través de los tejidos vasculares del tallo (31). El subproducto de la alcachofa está formado por tejidos maduros con un cantidad mayor de lignina y amoníaco (9,635 g/16 g N) que los tejidos del corazón de la alcachofa, ya que las plantas incrementan sus niveles de amoníaco durante el crecimiento o cuando se someten a condiciones de estrés (32-34).

Un método para evaluar la calidad de la proteína en los alimentos consiste en medir la proporción de aminoácidos disponibles en el alimento comparada con los modelos de requerimientos en aminoácidos propuestos por la FAO (35, 36). La Tabla 2 muestra la relación entre los aminoácidos de la alcachofa con el patrón de requerimientos de aminoácidos de la FAO para niños entre 2 y 5 años, que representa el rango de edad en el cual el hombre presenta mayores exigencias en aminoácidos. Se puede observar que la histidina fue el aminoácido limitante común a las tres muestras, la lisina en la muestra esterilizada y en el subproducto, y la fenilalanina+tirosina en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados. Sin embargo, para los otros aminoácidos esenciales la cantidad requerida para el consumo humano

parece ser adecuada, sobre todo los aminoácidos de azufre (metionina+cistina) los cuales se hallan en cantidades bajas en las proteínas de las legumbres (6).

TABLA 2
Aminoácidos marcadores en las alcachofas escaldadas, esterilizadas y en el subproducto

Aminoácidos Esenciales (AAE)	FAO/ WHO ^a	Cómputo químico		Sub- producto
		A. escaldadas	A. esterilizadas	
Histidina	19	55	68	76
Isoleucina	28	100	100	100
Leucina	66	100	100	100
Lisina	58	100	95	80
Met + Cys	25	100	100	100
Phe + Tyr	63	91	87	100
Treonina	34	100	100	100
Valina	35	100	100	100

^aPatrón de recomendaciones en necesidades de aminoácidos esenciales para niños entre 2 y 5 años (g/100 g) (35).

Digestibilidad "in vitro" de la proteína

El incremento de la temperatura tiene una relación positiva con la mejora de digestibilidad de las proteínas de los vegetales (8,13,30), ya que muchos de los factores antinutricionales presentes en las plantas son total o parcialmente inactivados por un adecuado procesamiento de los alimentos (9,25). En nuestro estudio el calentamiento aumentó significativamente la DIVP desde 71,7% en la muestra escaldada hasta 75,9% en la esterilizada (Tabla 3). Aunque la temperatura alcanzada en ambos tratamientos fue muy próxima (alrededor de 100°C), el aumento de DIVP en alcachofas esterilizadas puede explicarse por el mantenimiento en el tiempo de esta temperatura (5 minutos durante el escaldado más 5 minutos durante el esterilizado), causando un debilitando de la estructura de la proteína, y facilitando de esta manera el ataque de las enzimas proteolíticas (9). Junto con la temperatura, el pH ácido (4,5) usado en el proceso de esterilización puede actuar como factor adicional en la mejora de la digestibilidad proteica.

Los inhibidores de los enzimas digestivos, como el ácido fítico, los taninos y los inhibidores de la tripsina, constituyentes comunes en la composición de las legumbres (6,37), reducen la digestibilidad de las proteínas. Así mismo, la FD es otro factor responsable de la reducción de digestibilidad de la proteína en los vegetales (18,19). El alto contenido de FDT en nuestras muestras (que osciló desde 38,5 hasta 51,6% en el corazón de alcachofa esterilizado y en el subproducto, respectivamente, Tabla 3) pudo hacer difícil el acceso de los enzimas proteolíticos a sus substratos. El proceso de esterilización redujo el contenido en FDT alrededor de un 20%, aumentando de esta manera la accesibilidad física de los enzimas

proteolíticos a las proteínas, hecho que explica el moderado incremento de DIVP (alrededor de 6% a 7%). La reducción de FDT por el tratamiento térmico también se corresponde con una disminución de la proteína unida a la pared de la célula (de 5,88 a 3,84% para muestras escaldadas y esterilizadas, respectivamente), siendo otro factor que puede explicar la mejora de la digestibilidad proteica, ya que la fracción de proteína asociada a la fibra dietética es siempre una fracción de proteína digerida incompletamente (38).

TABLA 3

Contenido en proteína bruta, digestibilidad "in vitro" de la proteína, fibra dietética total y proteína unida a la fibra dietética (g/100g) en los corazones de alcachofa escaldados y esterilizados y en su subproducto industrial

	Alcachofa escaldada	Alcachofa esterilizada	Subproducto
PBd	18,9 ^a (0,13)	16,1 ^b (0,20)	13,3 ^c (0,07)
DIVP	71,7 ^b (0,62)	75,9 ^a (0,08)	76,4 ^a (0,52)
FDT	46,7 ^b (0,17)	38,5 ^c (0,84)	51,6 ^a (0,07)
PFd	5,9 ^a (0,13)	3,8 ^b (0,20)	3,0 ^c (0,09)

^{a-c}Medias (\pm error estándar) de tres determinaciones expresadas como g/100g de peso seco. Diferentes letras dentro de la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). ^aPB: proteína bruta, DIVP: digestibilidad "in vitro" de la proteína, FDT: fibra dietética total, PFd: proteína unida a la fibra dietética

El subproducto mostró el índice más alto de digestibilidad de la proteína (76,4%) junto con el contenido más bajo de PB (13,3%). Un factor que puede explicar los valores más altos de DIVP obtenidos en el subproducto respecto a los hallados en los corazones de alcachofa escaldados o esterilizados, es la incorporación de tejidos con otros componentes y estructura diferentes a los tejidos del corazón de alcachofa, ya que aquellos están formados por hojas maduras y la porción final del tallo. Durante la madurez y senescencia se originan modificaciones en el metabolismo de la planta, con el incremento en el contenido y actividad de determinadas enzimas hidrolíticas como las glucosidasas, proteinasas y ribonucleasas que causan pérdidas del contenido de proteínas y las hacen más susceptibles al ataque enzimático que las proteínas unidas a la pared de la célula (31).

El bajo contenido de metionina limita el valor nutritivo de muchas legumbres. Sin embargo, otros vegetales como la alcachofa, aun después del procesamiento, proporcionan a la dieta cantidades importantes de aminoácidos azufrados (metionina+cistina) y otros aminoácidos como la isoleucina, leucina, treonina y valina. Por este motivo, la alcachofa, junto con otros alimentos de origen vegetal distintos a los cereales y legumbres, debe estar presente cuando se efectúen recomendaciones de toma de proteínas. De la misma manera, este

estudio muestra que el subproducto de la alcachofa es una fuente potencial de aminoácidos, con una digestibilidad de la proteína mayor que los corazones de la alcachofa. Su digestibilidad puede aumentarse si se elimina la gran cantidad de proteína asociada a la pared de la célula (3,03%), siendo de esta manera un suplemento útil y más barato de aminoácidos esenciales para la fortificación de las proteínas de baja calidad.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto ALI94-0338 de la CICYT y a HERO España, S.A. por el apoyo económico.

REFERENCIAS

- Friedman M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review. *J Agric Food Chem* 1996;44:6-29.
- Joseph E, Swanson B G. Growth and nitrogen retention of rats fed bean (*Phaseolus vulgaris*) and bean and rice diets. *Food Res Int* 1993;4:261-69.
- Abreu M, Hernández M, Castillo A, González I, González J, Brito O. Study on the complementary effect between the proteins of wheat and amaranth. *Dier Nahrung* 1994;38:82-6.
- Fidanza F. Legumes. In: Spiller G A, editor. *The Mediterranean diets in health and disease*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991:102-9.
- Testolin G, Alberio A, Casisaghi E. Vegetables and Fruits. In: Spiller GA, editor. *The Mediterranean diets in health and disease*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991:110-24.
- Liener I E. Legume toxins in relation to protein digestibility a review. *J Food Sci* 1976;41:187-92.
- Lumen B O. Molecular strategies to improve protein quality and reduce flatulence in legumes: A review. *Food Structure* 1992;11:33-46.
- Estévez A M, Castillo E, Figuerola F, Yáñez E. Effect of processing on some chemical and nutritional characteristics of pre-cooked and dehydrated legumes. *Plant Foods Hum Nutr* 1991;41:193-201.
- Ros G, Collins J. Physico-chemical and nutritional properties of cowpeas (*Vigna unguiculata*) heated under pressure. *J Sci Food Agric* 1992;58:369-74.
- Barampama Z, Simard R. Oligosacchrides, antinutritional factors, and protein digestibility of dry beans as affected by processing. *J Food Sci* 1994;59:833-8.
- Carnovale E, Muccio C F. Ricerche sulla composizione di alcune varietà di *Cynara scolymus*. *Quaderni de lla Nutrizione* 1971;31:58-78.
- Casalichio G, Rastelli R, Lerici CR. Contributo alla conoscenza della composizione chimica della parte commestibile di alcuni vegetali prelevanti direttamente dal mercato. *Scienza e Tecnologia degli Alimenti* 1973;5:311-4.
- López G. Obtención de purificados de la fibra dietética de la alcachofa (*Cynara scolymus*, L.) y estudio de sus propiedades funcionales. [tesis doctoral]. Universidad de Murcia (España) 1995.
- Herranz J, Vidal-Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked spanish vegetables. *J Food Sci* 1981;46:1927-33.
- Herranz J, Vidal-Valverde C, Rojas-Hidalgo E. Cellulose, hemicellulose and lignin content of raw and cooked processed vegetables. *J Food Sci* 1983;48:247-75.
- Lintas C, Capelloni M. Content and composition of dietary fiber in raw and cooked vegetables. *Food Sci Nutr* 1988;42:117-24.
- Torre M, Rodríguez A R, Saura-Calixto F. Effect of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 1991;30:1-22.
- Gaudard-De Weck D, Hischenhuber C, Kruseman J. Proteins - definition, aspects nutritionnels et methodes d'evaluation: un article de revue. *Trav Chim Aliment Hyg* 1994;85:317-39.
- Melito C, Tovar J. Cell wall limit in vitro protein digestibility in processed legume seeds. *Food Chem* 1995;53:305-7.
- AOAC. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 1991.
- Satterlee L D, Kendrick J G, Marshall H F, Jewell D K, Ali R A, Heckman M M, et al. In vitro assay for predicting protein efficiency ratio as measured by rat bioassay: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem* 1982;65:798-809.
- Prosky L, Asp N G, Schweizer T F, Devries J W, Furda I. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods, food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 1988;71:1017-23.
- Wilkinson L. *Systat*. In: *The system for statistics*. Systat Inc; Evanston. Illinois 1986.
- Kapuler A M, Gurusiddiah S. The twenty protein amino acids free in the juices of our common vegetables and herbs. *J Home Cons Hort* 1994;1:3-18.
- Sathe S K, Iyer V, Salunkhe D K. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris*, L.) proteins. Amino acid composition, in vitro digestibility, and application to cookies. *J Food Sci* 1982;47: 8-11.
- Yadav N R, Liener I E. Optimizing the nutritive value of the protein of navy beans (*Phaseolus vulgaris*) by complementation with cereal proteins. *Legume Res* 1977;1:17-21.
- Periago M J, Ros G, Martínez M C, Rincón F, López G, Ortuño J, Ros F. In vitro estimation of protein and mineral availability in green peas as affected by antinutritive factors and maturity. *Lebensm-Wiss u Technol* 1996;29:481-8.
- Garlick P J, Reeds P J. Human nutrition and dietetics. In: Garrow JS, James WPT, editors. *Proteins*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1993:56-76.
- López G, Ros G, Rincón F, Ortuño J, Periago M J, Martínez M C. Amino acids and «in vitro» protein digestibility changes in green asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during growth and processing. *Food Res Int* 1997;29:617-25.
- Kadam S S, Smithard R R, Eyre M D, Armstrong D G. Effects of heat treatments of antinutritional factors and quality of protein in winged bean. *J Sci Food Agric* 1987;39: 267-75.
- Barceló J, Nicolás G, Sabater B, Sánchez R. *Fisiología Vegetal*. Ed. Pirámide, S.A., Madrid: 1992.
- Joy K W, Ireland R J, Lea P J. Asparagine synthesis in pea leaves, and the occurrence of an asparagine synthetase inhibitor. *Plant Physiology* 1983;73:165-8.
- Sieciechowicz K A, Joy K W, Ireland R J. The metabolism of asparagine in plants. *Phytochemistry* 1988;27:663-71.
- Hahlbrock K, Grisebach H. Enzymatic control in the biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annu Rev Plant Physiol* 1979;30:105-30.

35. FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirement. Report of Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Technical Report Series Number 724, WHO, Geneva, Switzerland 1985.
36. Kies C. Bioavailability: A factor in protein quality. *J Agric Food Chem* 1981;29:435-40.
37. Carnovale E, Lombardi-Boccia G, Marletta L. Contenuto in fattori antinutrizionali e digeribilità proteica in vitro di alcune cultivar di legumi. *La Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione* 1989;18:321-6.
38. Saunders R M, Betschart A A. The significance of protein as a component of dietary fiber. *Am J Clin Nutr* 1980;33:960-1.

Recibido:10-09-1998

Aceptado:15-01-1999