

## Efecto de la extrusión sobre la actividad de factores antinutricionales y digestibilidad *in vitro* de proteínas y almidón en harinas de *Canavalia ensiformis*

Nelson C. Zamora

Departamento de Fermentación, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel",  
Universidad Central de Venezuela. Caracas

**RESUMEN.** Se evaluó el efecto del tratamiento de extrusión (155° C, 20% de humedad, velocidad del tornillo 75 rpm, velocidad de alimentación 205 g/min.) sobre la actividad de factores antinutricionales de *Canavalia ensiformis*. La digestibilidad *in vitro* de proteínas y almidón fueron ensayados. La extrusión no afectó el contenido de proteínas de las harinas (23%), pero disminuyó significativamente ( $P < 0.01$ ) su contenido de humedad. La digestibilidad proteica *in vitro* fue mejorada desde 57.5 a 89.5%, valores muy por debajo al mostrado por la caseína (98.19%). Los valores de digestibilidad del almidón fueron mejorados desde 37.7 a 53%. La actividad de los inhibidores de proteasas (tripsina y quimotripsina) y la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -amilasa fueron reducidos en un 95%. La actividad hemaglutinante fue eliminada totalmente, como resultado de la alta temperatura empleada durante el proceso de extrusión. El contenido de canavanina en las harinas no fue afectado por el tratamiento de extrusión.

**Palabras clave:** *Canavalia ensiformis*, extrusión, harina, factores antinutricionales, digestibilidad.

**SUMMARY.** Effect of extrusion on the activity of antinutritional factors and *in vitro* digestibility of protein and starch in flours of *Canavalia ensiformis*. The effect of the extrusion (155° C, 20% moisture, screw speed 75 rpm, feed speed 205 g min<sup>-1</sup>) on antinutritional factors of *Canavalia ensiformis* was studied. *In vitro* protein and starch digestibilities were assessed. The extrusion not affect protein content (23%) in the flours, but significantly ( $P < 0.01$ ) decrease moisture content. The protein digestibility values were improved from 57.5 to 89.5%, these values were lower than casein (98.19%). The digestibility of starch values were improved from 37.7 to 53%. The protease inhibitors activities (trypsin and chymotrypsin) and  $\alpha$ -amylase inhibitor activity were reduced by 95%. The haemagglutinating activity was eliminated as result of the high temperature employed during the extrusion process. The canavanine content in the flours were not affect by the treatment of extrusion.

**Key words:** *Canavalia ensiformis*, jack bean, extrusion, flour, antinutritional factors, digestibility.

### INTRODUCCION

En países con una gran escasez de recursos financieros e insumos agrícolas, se ha hecho necesaria la búsqueda de fuentes alimentarias alternas, particularmente en base al uso de especies y variedades de poco valor comercial, las cuales son consumidas a pequeña escala y a nivel local (1). Como recurso alimenticio alternativo destacan las semillas de *Canavalia ensiformis* de origen tropical conocida con el nombre de "haba de burro", la que por su rendimiento agronómico y su elevado contenido de proteínas posee un gran potencial para la alimentación animal (2,3) y humana (4).

Las semillas de canavalia tienen un 30% de contenido de proteínas y un 60% de carbohidratos que la coloca como una importante fuente de gran valor energético y proteico (5). Es considerada como una planta rústica con altos rendimientos de granos y forraje capaz de proveer alimentos en áreas marginales, donde el cultivo de otras leguminosas

no tendría éxito (6). A pesar de las ventajas aparentes de esta especie para la producción de proteínas en los trópicos, la utilización de la canavalia ha sido limitada, debido a la presencia de ciertos factores antinutricionales, entre los que se encuentran los inhibidores de proteasas, de  $\alpha$ -amilasas, lectinas y aminoácidos no proteicos como la L-canavanina, que reducen la calidad nutricional de las proteínas (7,8).

Es conocido el efecto positivo de algunos tratamientos como el remojo, cocción y el tostado para mejorar la calidad nutricional de la harina de las semillas de canavalia, aumentando su digestibilidad y disminuyendo los factores antinutricionales (7-9). En las últimas décadas se ha desarrollado la extrusión, como un método versátil, rápido y eficiente en la reducción de factores antinutricionales y en el aumento de la digestibilidad proteica (10). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la extrusión sobre la actividad de factores antinutricionales y la digestibilidad *in vitro* de proteínas y almidón en la harina de granos de *Canavalia ensiformis*.

## MATERIALES Y METODOS

### Materiales

Las semillas de *Canavalia ensiformis*, analizadas, corresponden al genotipo Original, las cuales fueron suministradas por la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay. Un lote de éstas semillas se molió en un molino Arthur Thomas a 60 mesh (0,25 mm). Una porción de esta harina (5 kg) fue sometida al proceso de extrusión en un extrusor semi-industrial marca The Bonno, modelo 2½, bajo las siguientes condiciones: humedad de la harina cruda 20%; temperatura 155°C; velocidad del tornillo 75 rpm; velocidad de alimentación 205 g/min. El producto obtenido de la extrusión fue molido para obtener la harina extruida.

### Métodos

**Extracción de las proteínas:** Las proteínas solubles fueron extraídas, agitando un gramo de harina cruda o extruida en 10 ml de agua destilada durante 24 h a 4°C. Posteriormente la mezcla fue centrifugada a 10.000 rpm por 10 min. El sobrenadante se almacenó en frío para los ensayos.

**Extracción de los almidones:** Se procedió según el método de Sathe y Salunkhe (11).

**Determinación de proteínas:** La concentración de proteínas solubles fue determinado por el método de Lowry y col. (12), usando albúmina sérica bovina como patrón. El contenido de nitrógeno se determinó por el método micro-Keldhal (13), y el contenido de proteína total fue calculado multiplicando el nitrógeno obtenido por el factor 6,25.

**Determinación de almidón:** La concentración de almidón en las harinas, fue determinado por el método de Theander y Westerlund (14). Donde el almidón fue digerido con una amilasa termo estable de origen bacteriano (Termamyl) y la enzima amilo-glucosidasa (EC 3.2.1.3).

**Factores antinutricionales:** a) Inhibidor de tripsina: La actividad inhibitoria de tripsina se determinó por el método de Kakade y col. (15), usando benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) como sustrato. b) Inhibidor de quimotripsina: La actividad inhibitoria de la quimotripsina fue determinado por el método descrito por Kakade y col. (16), utilizando como sustrato caseína al 2%. c) Inhibición de  $\alpha$ -amilasa: La actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -amilasa se determinó por el método de Bernfeld (17). d) Título hemaglutinante: Se realizó por el método señalado por Jaffé y Brucher (18), utilizando eritrocitos lavados de sangre de conejo sin tratamiento enzimático previo y pre-tratados con pronasa y tripsina. e) Canavanina: Se determinó por el método

colorimétrico de Rosenthal (19), usando el reactivo pentacianoaminoferrato al 1%.

**Digestibilidad proteica in vitro:** Se procedió según el método de Akenson y Stahmann (20), utilizando la caseína como proteína patrón. Suspensiones de almidón de papa (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), la cual fueron cocida durante 20 min en baño maría, fueron ensayados como referencia. La digestibilidad fue calculada mediante la ecuación:

$$\% \text{ Digestibilidad} = \text{N digerido} / \text{N total} \times 100$$

**Digestibilidad del almidón in vitro:** Se realizó mediante el método de Singh y col. (21), utilizando amilasa pancreática porcina y midiendo la maltosa liberada. La digestibilidad fue calculada mediante la ecuación:

$$\% \text{ Digestibilidad} = (\text{Maltosa liberada (mg)} \times 0,9 \times 15 \text{ ml}) / (\text{120 mg de almidón} \times 0,2 \text{ ml}) \times 100$$

**Tratamiento de diálisis:** Se prepararon suspensiones mezclando la harina cruda y extruida con agua destilada en una proporción 1:20 (harina:agua), las cuales fueron colocadas en membrana de diálisis de celulosa natural, dializándose contra agua destilada por 72 h con 8 cambios de agua.

**Análisis estadísticos:** Los resultados fueron dados como la media  $\pm$  desviación estándar, donde se usó la Prueba t student para comparar las medias de la harina cruda y tratada, utilizando el programa Number Cruncher Statistical System (Versión 4,22) para Computadoras IBM, elaborado por Jerry L. Hintze, Kaysville, Utah, 1986. La diferencia de significación estadística fue definida como  $P < 0,01$ .

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Composición química de la harina cruda y extruida de *Canavalia ensiformis*

El contenido de proteínas, almidones y humedad en las harinas cruda y extruida se muestra en la Tabla 1. El proceso de extrusión no afectó el contenido de proteínas de la harina, pero disminuyó significativamente su contenido de humedad y se observó un incremento del 10% en la fracción de almidón en la harina tratada. Los valores de proteína total obtenidos para la harina cruda y tratada de canavalia, son bajos en comparación a otros estudios que en promedio reportan un 31%. Estas diferencias pueden deberse a las condiciones ambientales que prevalecieron durante el desarrollo del cultivar Original y madurez de la semilla. Al comparar los resultados obtenidos con otros genotipos de canavalia, el

menor valor proteico corresponde al genotipo Original (22-24).

TABLA 1

Contenido total de proteínas, humedad y almidón en harina cruda y extruida de *Canavalia ensiformis*

Muestra	Proteína total (g/100g)	Humedad (g/100g)	Almidón (g/100g)
Harina Cruda	23.39 ± 0.16	17.70 ± 0.19	56.70 ± 0.97
Harina Extruida	23.28 ± 0.15	10.90 ± 0.08 (a)	65.06 ± 1.52 (a)
Caseína	88.52 ± 0.51	11.80 ± 0.32	—

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 5 determinaciones. La muestra de caseína fue incluida en el análisis como proteína patrón.

(a) Significativamente diferente (P < 0.01) del valor obtenido para la harina cruda.

En la harina tratada (Tabla 2), se observó una contaminación de la fracción de almidón con proteínas que alcanzó un valor de 20%. Esto puede atribuirse a la desnaturalización de las proteínas de la harina durante el tratamiento, por lo que el almidón permanece atrapado en la matriz proteica, resultando en una fracción relativamente insoluble, que co-purifica, resultando difícil la separación por el procedimiento usado en este trabajo (25).

TABLA 2

Contenido de proteínas de la fracción de almidones en harina cruda y extruida de *Canavalia ensiformis*

Almidón de	Proteínas (g/100g)
Harina cruda	0.84 ± 0.04
Harina cruda dializada	0.92 ± 0.04
Harina extruida	20.10 ± 0.36
Harina extruida dializada	19.54 ± 0.41

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 6 determinaciones.

#### Digestibilidad in vitro de proteínas y almidones

Como se presenta en la Tabla 3, el proceso de extrusión aumentó la digestibilidad proteica in vitro de las harinas de 57,5 a 89,5%. No obstante, la digestibilidad de las proteínas de ambos tipos de harinas fue significativamente menor que el de la caseína (98.19%) utilizada como patrón de referencia. El valor de digestibilidad proteica de la harina cruda resultó ser mayor al reportado por Gómez (7), quien obtuvo un 50% de digestibilidad in vitro en la harina cruda del genotipo

Original. Esta diferencia son probablemente debido a condiciones del cultivo y madurez de la semilla. La baja digestibilidad proteica de la harina cruda de canavalia al igual que la de otras leguminosas; quizás pueda deberse a su resistencia al ataque proteolítico y a la presencia de factores inhibidores de proteasas (7).

TABLA 3

Digestibilidad in vitro de proteínas y almidones

Muestra	Digestibilidad proteínas (g/100g)	Digestibilidad almidones (g/100g)
Harina Cruda	57.52 ± 1.01 <sup>a</sup>	37.74 ± 0.95
Harina Extruida	89.46 ± 1.16 <sup>a,b</sup>	53.03 ± 1.32
Caseína	98.19 ± 0.50	—
Almidón	—	—
Papa crudo	—	46.43 ± 1.03
Almidón	—	—
Papa cocido	—	61.31 ± 3.70

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 3 o 4 determinaciones. La muestra de caseína fue incluida en el análisis como proteína patrón.

a. Significativamente diferente (P < 0.01) comparado con la caseína  
b. Significativamente diferente (P < 0.01) comparado con la harina cruda.

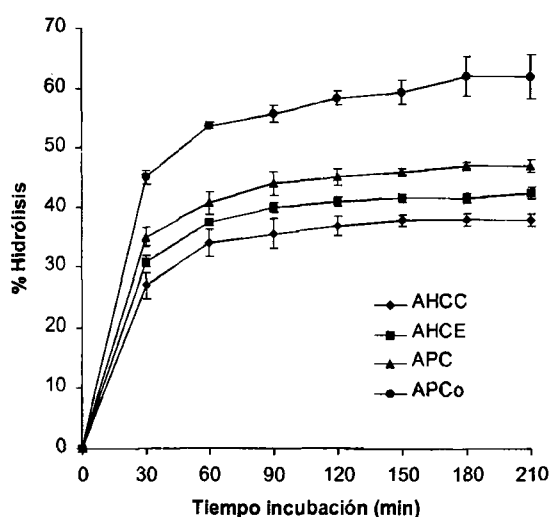
En la Tabla 3, se presenta el efecto de la extrusión sobre la digestibilidad in vitro de los almidones de canavalia. El tratamiento aumentó significativamente la digestibilidad del almidón desde 37,7 hasta 53%. La digestibilidad del almidón de la harina extruida fue significativamente mayor, que la digestibilidad del almidón de papa crudo usado como referencia, pero también menor que la del almidón de papa cocido usado como referencia. De acuerdo, a la naturaleza del almidón este puede formar complejos almidón-proteínas que son digeridos más lentamente que el almidón no acomplejado (25). La presencia de proteínas en la fracción de almidón (Tabla 2), aislada de la harina extruida pueden en parte, contribuir a la baja digestibilidad in vitro de este carbohidrato.

La cinética de hidrólisis de los almidones de papa y canavalia se presenta en la Figura 1. En los resultados obtenidos, se observó intensa degradación durante los primeros 30 minutos, con ligeros incrementos hasta los 210 minutos de incubación. El almidón de papa crudo fue más digerible que el almidón de canavalia crudo, y el almidón de papa cocido se degradó en mayor proporción que el almidón de canavalia extruida. Se ha reportado, que las harinas de canavalia son relativamente ricas en amilosa,

alrededor de un 37.5% (26,27), la cual restringe la susceptibilidad del almidón al ataque amilolítico. Los resultados obtenidos confirman el hallazgo referente a que los almidones de las leguminosas son resistentes a la hidrólisis enzimática (27,28).

FIGURA 1

Cinética de hidrólisis de almidones tratados y no tratados de papa y *Canavalia ensiformis*: (◆), almidón de harina canavalia cruda; (□), almidón de harina canavalia extruida; (△), almidón de papa crudo; (○), almidón de papa cocido. Las barras indican la desviación estándar de las medias;



### Factores antinutricionales

Por efecto de la extrusión, las actividades inhibitorias de tripsina, quimotripsina y  $\alpha$ -amilasa disminuyeron hasta un 95% (Tabla 4). Estudios en diferentes leguminosas muestran que por medio de la cocción, se puede reducir significativamente la actividad de los inhibidores, pero persiste una actividad residual de los inhibidores de proteasas atribuido a la presencia de factores termoestables, los cuales parecen aumentar con el tratamiento (7). El tratamiento de extrusión parece ser muy efectivo para reducir los inhibidores de tripsina, quimotripsina y  $\alpha$ -amilasa, sin modificar el contenido proteico en las harinas tratadas de canavalia; quizás esto pueda deberse a los principios físicos y mecánicos del tratamiento (10).

### Efecto de la extrusión sobre la actividad hemaglutinante

En la Tabla 5, se presenta el efecto del tratamiento de extrusión sobre la actividad hemaglutinante de las harinas de canavalia. En comparación a los eritrocitos no tratados,

la incubación de estos con tripsina y con pronasa aumentó sustancialmente el título hemaglutinante de los extractos acuosos de la harina cruda, indicando que estos tratamientos aumentan la sensibilidad de los eritrocitos de conejo frente a la Concanavalina A. El tratamiento de extrusión fue efectivo para eliminar la actividad hemaglutinante presente en la harina cruda de canavalia, de tal forma que esta no pudo ser detectada en los eritrocitos activados con enzimas proteolíticas. Estos resultados concuerdan con los expuestos por otros autores (28,29), quienes encontraron una alta sensibilidad de las hemaglutininas a los tratamientos térmicos debido a su naturaleza proteica.

TABLA 4

Efecto de la extrusión sobre la actividad inhibitoria de tripsina, quimotripsina y  $\alpha$ -amilasa

Actividad inhibitoria (U/mg)	Harina cruda	Harina extruida	Inactivación (%)
Tripsina	27.40 $\pm$ 0.22	1.40 $\pm$ 0.19	95.00 $\pm$ 0.65
Quimotripsina	21.05 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.04	99.00 $\pm$ 0.15
$\alpha$ -amilasa	7.10 $\pm$ 0.53	0.21 $\pm$ 0.05	97.00 $\pm$ 0.76

Los valores son las medias  $\pm$  la desviación estándar de 3 determinaciones.

TABLA 5

Actividad hemaglutinante en extractos de harina cruda y extruida de *Canavalia ensiformis*

Harina	Título hemaglutinante *		
	Tratamiento de los eritrocitos		
	Ninguno	Tripsina	pronasa
Cruda	16	19	26
Extruida	ND	ND	ND

\* Los valores corresponden a la alta dilución donde se observa hemaglutinación macroscópica en 1 h.

ND. No Detectable

### El contenido de canavanina de las harinas de canavalia

El tratamiento de extrusión no alteró el contenido de la canavanina (Tabla 6). Por su parte, el tratamiento de diálisis, disminuyó el contenido de canavanina de las muestras hasta valores cercanos al límite de detección del método utilizado. Los resultados de la Tabla 6 son similares a los reportados

por Tepal y col. (29). Debido a que la temperatura de descomposición de la canavanina es de 184°C, resulta razonable que el tratamiento de extrusión realizado a 155°C no afectó el contenido de este aminoácido. El ligero incremento reportado en la Tabla 6, puede deberse al menor contenido de humedad de la harina extruida (Tabla 1) o a que el método de detección de la canavanina no es 100% específico, pudiendo detectar productos de su descomposición, ya que este método ha sido criticado por carecer de una especificidad absoluta y un umbral elevado de sensibilidad (30).

TABLA 6  
Contenido de canavanina en harinas crudas y extruidas de *Canavalia ensiformis*

Harina	Canavanina (g/100g)
Cruda	4.42 ± 0.01
Cruda dializada	0.15 ± 0.01
Extruida	4.71 ± 0.07
Extruida dializada	0.15 ± 0.01

Los valores son las medias ± la desviación estándar de 4 determinaciones.

Los resultados obtenidos con las harinas dializadas, confirman estudios previos los cuales mencionan que la descomposición del aminoácido podría conseguirse mediante remojo prolongado a temperaturas superiores a 184°C (7,31). Además se ha observado la disminución en la concentración de canavanina cuando el grano es sometido a remojo, debido a la solubilidad del aminoácido en agua, lo que permitiría su pérdida en las aguas de remojo, esto puede ser debido a que durante el proceso se logra un mejor contacto entre las partículas de la harina y el calor (7,10,31).

En general, los resultados indican que el efecto de la extrusión de la harina de canavalia, bajo las condiciones usadas, fue sumamente efectivo para la reducción de inhibidores de proteasas, inhibidores de  $\alpha$ -amilasas, hemaglutininas y aumentar la digestibilidad in vitro de proteínas y almidones, sin modificar el contenido proteico y la canavanina. Los resultados demuestran claramente la importancia de continuar investigaciones para mejorar la calidad nutricional de los granos de canavalia, con la finalidad de su incorporación en la alimentación animal y/o humana.

#### AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Dr. Andrés Carmona la constante ayuda prestada, así como sus valiosas observaciones durante la realización de este trabajo. Igualmente, el Grupo de

Bioquímica y Nutrición, Instituto de Biología Experimental, Universidad Central de Venezuela, por posibilitar el uso de sus laboratorios para la realización de este trabajo.

#### REFERENCIAS

- Molina M, Bressani R y Elias LG. Non conventional legume grains proteins sources. *Food Technol.* 1977;5:188-190.
- Risso JF y Montilla JJ. Harina de granos de *Canavalia ensiformis* L (DC) cruda, almacenada en medio alcalino, autoclavada o extruida, en dietas para cerdos en crecimiento. *Arch Latinoamer Nutr.* 1992;42(3):268-274.
- Vargas RE, Castillo M y Michelangeli C. Efectos de la melaza de caña sobre el valor nutricional de los granos de *Canavalia ensiformis* en pollos de engorde. *Arch Latinoamer Nutr.* 1996;46(2):163-168.
- Chel-Guerrero L, Pérez-Flores V, Betancur-Ancona D y Dávila-Ortiz G. Functional properties of flours and protein isolates from *Phaseolus lunatus* and *Canavalia ensiformis* seeds. *J Agric Food Chem.* 2002;50:584-591.
- Udedibie ABI. Nutritional evaluation of Jackbean (*C. ensiformis*) for the Nigerian poultry industry. *Ambio.* 1990;19:361-365.
- Viera J y Díaz Y. El cultivo de Canavalia. *Agronomía al Día.* 1:1. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1988.
- Gómez-Sotillo A. Efectos de tratamientos físicos y químicos sobre factores antinutricionales presentes en las semillas de *Canavalia ensiformis*. Digestibilidad *in vivo e in vitro*. Tesis de Postgrado en Botánica. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 1990;163.
- Michelangeli C y Vargas RE. L-canavanine influences feed intake, basic plasma amino acids and kidney arginase activity in chicks. *J Nutrition.* 1994;124:1084-1087.
- Bressani R y Sosa JL. Effect of processing on the nutritive value of canavalia jack beans (*Canavalia ensiformis*). *Plant Foods Human Nutr.* 1990;40:207-214.
- Cheftel JC. Nutritional effects of extrusion-cooking. *Food Chem.* 1998;20:263-283.
- Sathe SK y Salunkhe DK. Isolation, partial characterization and modification of the greath northern bean (*Phaseolus vulgaris*) starch. *J Food Sci.* 1981;46(4):617-621.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL y Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193:265-275.
- Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C). Official methods of analysis. 13<sup>th</sup> Ed. Washington D.C.1980;850.
- Theander O y Westerlund EA. Studies on dietary fiber. 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. *J Agric Food Sci.* 1986;34:330-336.
- Kakade ML, Simon N y Liener IE. An evaluation of natural vs. Synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soy-bean samples. *Cereal Chem.* 1969;46:518-526.
- Kakade ML, Swenson DH y Liener IE. Note on the determination of chymotrypsin and chymotrypsin inhibitor activity using casein. *Anal Biochem.* 1970;33:225-230.

17. Bernfeld P. Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$ . *Methods Enzymol.* 1955;1:149-158.
18. Jaffé WG y Brucher O. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). *Arch Latinoamer Nutr.* 1972;22:267-281.
19. Rosenthal GA. Preparation and colorimetric analysis of L-canavanine. *Anal Biochem.* 1972;77:147-151.
20. Akerson WR y Stahmann MA. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *J Nutrition.* 1964;83:257-260.
21. Singh U, Kherdekar MS y Jambunathan R. Studies on desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars; The levels of amylase inhibitors, levels of oligosaccharides and in vitro starch digestibility. *J Food Sci.* 1982;47:510-512.
22. Ramírez MAO y Ortiz de Bertorelli L. Características químicas y nutricionales del grano de cinco (5) genotipos de *Canavalia ensiformis*. *Arch Latinoamer Nutr.* 1997;47(3):234-236.
23. Ramírez MAO y Ortiz de Bertorelli L. Estudio de algunas características de las proteínas de canavalia. *Arch Latinoamer Nutr.* 2000;50(1):69-73.
24. Ortiz de Bertorelli L y Ramírez A. Estudio electroforético de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformis*. *Arch Latinoamer Nutr.* 2000;50(1):74-80.
25. Thorne MJ, Thompson LU y Jenkins DJA. Factors affecting starch digestibility and the glycemic response with special reference to legumes. *Am J Clin Nutr.* 1983;38:481-488.
26. Betancur AD y Chel-Guerrero L. Acid hydrolysis and characterization of *Canavalia ensiformis* starch. *J Agric Food Chem.* 1997;45:4237-4241.
27. Tovar J, Bjorck I y Asp NG. Incomplete digestion of legume starches in rats: A study of precooked flours containing retrograded and physically inaccessible starch fractions. *J Nutrition.* 1992;122:1500-1507.
28. Pacheco de Delahaye E, Mata J, Michelangeli C y Viera J. Valor nutricional y contenido de factores antinutricionales de harinas precocidas de granos de *Canavalia ensiformis*. *Acta Científica Venezolana.* 1995;46:125-128.
29. Tepal JA, Castellanos R y Larios A. Detoxification of jack beans (*Canavalia ensiformis*): I. Extrusion and canavanine elimination. *J Sci Food Agric.* 1994;66:373-379.
30. Oropeza C, Alpizar I, Loyola-Vargas VM, Quiroz J y Scorer K. Determination of L-canavanine and L-canaline in plant tissues by high performance liquid chromatography. *J Chromatography.* 1988;456:405-409.
31. Michelangeli C. Efecto de varios tratamientos sobre factores antinutricionales de *Canavalia ensiformis* incluida en dietas para pollos en crecimiento. Trabajo de Ascenso. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay. 1984.

Recibido: 31-07-2002

Aceptado: 30-04-2003